

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.)  
DAN FENUGREEK (*Trigonella foenum-graecum* L.) TERHADAP KADAR GOT,  
GPT, HISTOLOGI PANKREAS DAN HISTOLOGI HEPAR MENCIT (*Mus  
musculus*) YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

**TESIS**

Oleh

**ZAHROTUL FITRIANA MAGHFUROH  
NIM : 19820002**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
PASCASARJANA UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2022**

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN  
FENUGREEK (*Trigonella foenum-graecum* L.) TERHADAP KADAR GOT, GPT,  
HISTOLOGI PANKREAS DAN HISTOLOGI HEPAR MENCIT (*Mus musculus*)  
YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

**TESIS**

**Oleh :  
ZAHROTUL FITRIANA MAGHFUROH  
NIM : 19820002**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Menempuh Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Magister Sains (M.Si.)**

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG**

**2022**

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN  
FENUGREEK (*Trigonella foenum-graecum* L.) TERHADAP KADAR GOT, GPT,  
HISTOLOGI PANKREAS DAN HISTOLOGI HEPAR MENCIT (*Mus musculus*)  
YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

**TESIS**

Oleh :  
**ZAHROTUL FITRIANA MAGHFUROH**  
NIM : 19820002

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji  
tanggal : 24 November 2022

**Pembimbing I**

**Prof. Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si**  
NIP. 19741018 200312 2 002

**Pembimbing II**

**Prof. Dr. drh. Hj. Bayvinatul Muchtaromah, M.Si**  
NIP. 19710919 2000 03 2 001

**Mengetahui,**

**Ketua Program Magister Biologi**



**Prof. Dr. drh. Hj. Bayvinatul Muchtaromah, M. Si**  
NIP. 19710919 200003 2 001

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN  
FENUGREEK (*Trigonella foenum-graecum* L.) TERHADAP KADAR GOT, GPT,  
HISTOLOGI PANKREAS DAN HISTOLOGI HEPAR MENCIT (*Mus musculus*)  
YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

**TESIS**

**Oleh :  
ZAHROTUL FITRIANA MAGHFUROH  
NIM : 19820002**

**Telah Dipertahankan  
di Depan Dewan Penguji Tesis dan Dinyatakan Diterima sebagai  
Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Magister Sains (M.Si)  
Tanggal : 24 November 2022**

**Penguji Utama : Dr. Kiptiyah, M.Si** (  )  
NIP. 19731005 200212 2 003

**Ketua Penguji : Dr. Eko budi Minarno, M.Pd** (  )  
NIP.19630114 199903 1 001

**Sekretaris Penguji : Prof.Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si** (  )  
NIP. 19741018 200312 2 002

**Anggota Penguji : Prof.Dr.drh.Hj.Bayyinatul Muchtaromah, M.Si** (  )  
NIP. 19710919 2000 03 2 001

**Mengesahkan,**

**Mengetahui,**

**Ketua Program Magister Biologi**  
  
**Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si.**  
NIP. 19710919 200003 2 001

## Halaman persembahan

Tesis ini dipersembahkan untuk orang-orang yang telah mendukung penulis untuk menyusun tesis ini, khususnya :

1. Alm. Ayah dan Ibunda tercinta, Bapak Drs. Sugeng Utomo dan Enty Rasdiana yang telah merawat, mendidik, dan mendoakan sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik.
2. Kedua Putriku, Annisa Rahmatyana Kamilah dan Nafisha Dwi Kamilah yang memberikan support sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik.
3. Ibu Prof. Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan arahan dan kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan baik.
4. Ibu Prof. Dr. Drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si. selaku dosen pembimbing I yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, serta ilmu untuk memberikan bimbingan kepada penulis dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan baik.
5. Bapak Dr. H. Eko Budi Minarno, M.Pd selaku dosen wali dengan kesabarannya telah banyak memberikan motivasi kepada kami sehingga penulisan naskah tesis bisa terselesaikan.
6. Semua dosen maupun asisten dosen di Program Studi Magister Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat.
7. Teman-teman seperjuangan dari awal hingga akhir studi Magister Biologi Angkatan 2019 yang selalu memberikan motivasi untuk menyelesaikan tesis ini.

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : ZAHROTUL FITRIANA MAGHFUROH  
NIM : 1982002  
Program Studi : Magister Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : **PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN FENUGREEK (*Trigonella foenum-graecum*L.) TERHADAP KADAR GOT, GPT, HISTOLOGI PANKREAS DAN HISTOLOGI HEPAR MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tesis ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 24 November 2022

at pernyataan,



ZAHROTUL FITRIANA MAGHFUROH  
NIM. 19821002

## PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS

Tesis ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

*Bismillahirrohmaanirrohim*, segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “Bioprospeksi Uwi Liar *Dioscorea sp.* Sebagai Penghasil Uwi”. Tidak lupa pula shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. yang telah menegakkan diinul Islam yang terpatri hingga akhirul zaman.

Aamiin.

Berkat bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak maka penulis mengucapkan terima kasih yang tak terkira khususnya kepada :

1. Prof. Dr. H. Muhammad Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Hariani, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Ketua Program Studi Magister Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si dan Prof.Dr.drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si. selaku pembimbing I dan pembimbing II, yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
5. Dr.H.Eko Budi Minarno, M.Pd selaku Dosen penguji yang telah membimbing dan memberi motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik

6. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Magister Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang memberikan ilmu yang mermanfaat.
7. Bapak Bashar, M.Si yang sudah membantu penelitian di Laboratorium jaringan hewan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
8. Bapak, Ibu, suami, anak-anak dan keluarga tercinta yang telah memberikan Doa dukungan serta motivasi kepada penulis.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Malang, 24 November 2022

Penulis

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN FENUGREEK (*Trigonella foenum-graecum* L.) TERHADAP KADAR SGOT, SGPT, HISTOLOGI PANKREAS DAN HISTOLOGI HEPAR MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

Zahrotul Fitriana Maghfuroh, Retno Susilowati, Bayyinatul Muchtaromah

Program Studi Magister Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi,  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

**ABSTRAK**

Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu penyakit degeneratif yang menjadi penyebab kematian terbesar di Indonesia. Pada DM tipe 2, akan ditemukan adanya kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas, sehingga menyebabkan keadaan hiperglikemi atau meningkatnya kadar glukosa darah. Meningkatnya kadar glukosa darah ini selanjutnya akan mengganggu metabolisme dan akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Tingginya kadar oksidan dapat diturunkan dengan Jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dan Fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) yang mempunyai kandungan senyawa antioksidan dan antihiperglikemik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak Jintan hitam, Fenugreek, serta kombinasi keduanya pada enzim transaminase (GOT dan GPT) serta gambaran histopatologi hepar dan pankreas mencit (*Mus musculus*) yang di induksi DM dengan Streptozotocin.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap). Penelitian ini menggunakan 6 perlakuan dengan 6 kali ulangan. Data kadar transaminase (GOT dan GPT) yang diperoleh dari hasil penelitian kemudian dianalisis dengan analisis variansi (ANOVA) menggunakan Owo Way Anova, kemudian setelah itu dilakukan uji duncan untuk mengetahui beda nyata data setiap kelompok perlakuan.

Hasil penelitian ini menunjukkan kadar enzim GOT dan GPT sulit diidentifikasi apakah pemberian perlakuan ekstrak Jintan hitam dan Fenugreek berdampak secara signifikan. Hal ini dikarenakan kontrol negatif menunjukkan mencit tidak mengalami diabetes. Pada pengamatan histopatologi pankreas kelompok P3 (ekstrak Fenugreek dosis 100 mg/kg BB) merupakan kelompok yang memiliki gambaran yang paling baik, sedangkan pada pengamatan histopatologi hepar kelompok P2 (ekstrak Jintan hitam dosis 100 mg/kg BB dan Fenugreek dosis 50 mg/kg BB) merupakan kelompok yang memiliki gambaran yang paling baik. Secara keseluruhan P2 menjadi yang paling efektif mengontrol terhadap kadar enzim GOT, enzim GPT, histologi pankreas dan histologi hepar pada mencit yang diinduksi dengan Streptozotocin pada penelitian ini.

Kata kunci : Diabetes Melitus (DM), ekstrak Jintan hitam, Fenugreek

**EFFECT OF THE COMBINATION OF BLACK QUICK SEED EXTRACT ( *Nigella sativa* L. ) AND FENUGREEK ( *Trigonella foenum-graecum* L. ) ON LEVELS OF S GOT, S GPT, PANCREAS HISTOLOGY AND HEPARAL HISTOLOGY OF STREPTOZOTOCIN INDUCED MICE ( *Mus musculus* )**

Zahrotul Fitriana Maghfuroh , Retno Susilowati , Bayyinatul Muchtaromah

Biology Masters Study Program , Faculty Science and technology ,  
State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang

**ABSTRACT**

Diabetes Mellitus (DM) is one disease degenerative being \_ reason death the biggest in Indonesia. In DM type 2, there will be damage to the pancreatic  $\beta$  cells , so causing circumstances hyperglycemia or increasing rate glucose blood . This increase in blood glucose levels will further disrupt the metabolism and will cause occurrence of oxidative stress . Height rate oxidant could lowered with Caraway black ( *Nigella sativa* L.) and Fenugreek ( *Trigonella foenum graceum* L.) which have content compound antioxidants and antihyperglycemic . Purpose study this is for determine the effect of black cumin extract, Fenugreek , and the combination of both on transaminase enzymes (GOT and GPT) and histopathological picture of the liver and pancreas of mice (*Mus musculus*) DM induced with Streptozotocin.

This research is a laboratory experimental study with the research design used is RAL (Completely Randomized Design). This study used 6 treatments with 6 replications . Obtained data of transaminases (GOT and GPT) levels from results study then analyzed with analysis variance (ANOVA) using Owo Way Anova , then after that conducted test duncan for know different real data every group treatment .

Results study this show rate GOT and GPT enzymes are difficult identified is gift treatment extract Caraway black and Fenugreek impact in a manner significant . this \_ because control negative show mice no have diabetes. On observation histopathology pancreas group P3 (Fenugreek extract dose of 100 mg/kg BW) is group that has the best picture , meanwhile on observation histopathology liver group P2 ( extract Caraway black dose of 100 mg/kg BW and Fenugreek at a dose of 50 mg/kg BW) is group that has the best picture . kindly overall P 2 becomes most effective control of enzyme levels GOT, enzymes GPT, pancreatic histology and liver histology in mice induced with Streptozotocin on study this .

Keywords : Diabetes Mellitus ( DM), extract Caraway hi tam , Fenugreek

تأثير الجمع بين مستخلص البذور السوداء السريعة (نيجيلا ساتيفا إل) والفينو جريك (تريجونيل-foenum-graecum L.) على مستويات GOTS و GPTS و PANCREAS HISTOLOGY و HEPARAL (Mus musculus) المستحثة HEPARAL HEPARAL MICE OF STREPTOZOTOCIN

زهروتول فيترينا Retno ، Maghfuroh سوسيلواتي ، باياتول Muchtaromah

برنامج دراسة ماجستير الأحياء ، الكلية علوم و التكنولوجيا  
جامعة الدولة الإسلامية مولانا مالك إبراهيم مالانج

### نبذة مختصرة

مرض السكري (DM) واحد مرض كائن تنكسي \_ السبب الموت الأكبر في إندونيسيا. في نوع DM 2، سيكون هناك ضرر لملف خلايا البنكرياس ، لذلك \_ مما تسبب في ظروف ارتفاع السكر في الدم أو في ازدياد معدل الجلوكوز الدم . هذه الزيادة في مستويات الجلوكوز في الدم ستزيد من تعطيل عملية التمثيل الغذائي وستسبب ذلك حدوث الاكسدة . \_ ارتفاع معدل مؤكسد يستطع خفضت مع كراوية أسود (Nigella sativa L.) والحلبة (Trigonella foenum graecum L.) التي تحتوي على المحتوى مُجمَع مضادات الأكسدة و خافض لسكر الدم . غرض دراسة هذه هو ل تحديد تأثير مستخلص الحبة السوداء والحلبة والجمع بينهما على إنزيمات الترانساميناز (GOT و GPT) والصورة النسيجية المرضية للكبد والبنكرياس في الفئران (Mus musculus) يسبب DM مع الستربتوزوتوسين.

هذا البحث عبارة عن دراسة تجريبية معملية مع تصميم البحث المستخدم (RALتصميم عشوائي بالكامل). استخدمت هذه الدراسة 6معالجات بـ 6مكررات . تم الحصول على بيانات مستويات الترانساميناز (GOT و GPT) من النتائج دراسة ومن بعد تحليلها مع تحليل التباين (ANOVA) باستخدام أوو واي أنوفا ، إذن بعد، بعدما الذي - التي أجري امتحان دنكان ل علم مختلف بيانات حقيقية كل مجموعة العلاج .

نتائج دراسة هذه مشاهدته معدل إنزيمات GOT و GPTصعبة المحددة هو هدية مجانية علاج مقتطف كراوية أسود وتأثير الحلبة \_ بأسلوب كبير . هذا \_ لأن مراقبة نفي مشاهدته الفئران رقم مصاب بداء السكري . على الملاحظة التشريح المرضي البنكرياس المجموعة ( P3جرعة مستخلص الحلبة 100مجم /كجم من وزن الجسم (هي المجموعة التي لديها أفضل صورة ، في غضون ذلك على الملاحظة التشريح المرضي الكبد المجموعة ) (P2مقتطف كراوية أسود جرعة 100مجم / كجم من وزن الجسم والحلبة بجرعة 50مجم /كجم من وزن الجسم (هي المجموعة التي لديها أفضل صورة \_ . يرجى يصبح 2P بشكل عام السيطرة الأكثر فعالية على مستويات الإنزيم GOT ، الإنزيمات GPT وأنسجة البنكرياس وأنسجة الكبد في الفئران المستحثة بالستربتوزوتوسين على دراسة هذا .

الكلمات الرئيسية : مرض السكري (DM) ، مقتطف كراوية مرحبا تام ، الحلبة

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	v
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS .....	vi
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
مجمّل .....	ix
KATA PENGANTAR .....	x
DAFTAR ISI .....	xi
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah.....</b>	<b>6</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian .....</b>	<b>6</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian .....</b>	<b>6</b>
<b>1.5 Hipotesis Penelitian .....</b>	<b>6</b>
<b>1.5 Batasan Masalah .....</b>	<b>7</b>
<b>BAB II TINJUAN PUSTAKA .....</b>	<b>8</b>
<b>2.1 Diabetes Mellitus .....</b>	<b>8</b>
<b>2.1.1 Klasifikasi Diabetes Melitus.....</b>	<b>8</b>
<b>2.2 Radikal Bebas dan Antioksidan.....</b>	<b>10</b>
<b>2.3 Streptozotocin.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4 SGOT dan SGPT.....</b>	<b>13</b>
<b>2.5 Pankreas .....</b>	<b>14</b>
<b>2.6 Hepar .....</b>	<b>16</b>
<b>2.7 Jintan Hitam.....</b>	<b>18</b>
<b>2.8 Fenugreek .....</b>	<b>21</b>
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>23</b>
<b>3.1 Rancangan Penelitian.....</b>	<b>23</b>
<b>3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....</b>	<b>23</b>

<b>3.3 Alat dan Bahan.....</b>	<b>23</b>
<b>3.3.1 Alat.....</b>	<b>23</b>
<b>3.3.2 Bahan .....</b>	<b>23</b>
<b>3.4 Variabel Penelitian.....</b>	<b>24</b>
<b>3.5 Populasi dan Sampel Penelitian.....</b>	<b>24</b>
<b>3.6 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>24</b>
<b>3.6.1 Persiapan .....</b>	<b>24</b>
<b>3.6.1.1 Pembuatan Larutan Streptozotocin.....</b>	<b>25</b>
<b>3.6.1.2 Pembuatan Sediaan Uji.....</b>	<b>25</b>
<b>3.6.1.3 Pemeliharaan Mencit.....</b>	<b>25</b>
<b>3.6.2 Pelaksanaan .....</b>	<b>25</b>
<b>3.6.2.1 Pembuatan Hewan Eksperimental Diabetes Melitus Tipe 2.....</b>	<b>25</b>
<b>3.6.2.2 Pembuatan Larutan Na-CMC 0,5%.....</b>	<b>26</b>
<b>3.6.2.3 Terapi Ekstrak Nigella sativa L. dan Trigonella foenum-graceum L.....</b>	<b>26</b>
<b>3.6.3 Pengambilan Data .....</b>	<b>26</b>
<b>3.6.3.1 Pembuatan Lisat Hepar .....</b>	<b>26</b>
<b>3.6.3.2 Pengukuran Kadar SGOT dan SGPT .....</b>	<b>27</b>
<b>3.6.3.2.1 Metode Kinetik Enzimatik .....</b>	<b>27</b>
<b>3.6.3.2.2 Metode Automatik.....</b>	<b>27</b>
<b>3.7.3.3 Metode Pembuatan Preparat .....</b>	<b>28</b>
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>31</b>
<b>4.1 Hasil Data Pengaruh Jintan Hitam dan Fenugreek Terhadap Kadar SGOT dan SGPT.....</b>	<b>31</b>
<b>4.2 Hasil Data Pengaruh Jintan Hitam dan Fenugreek Terhadap Histologi Pankreas dan Histologi Hepar .....</b>	<b>32</b>
<b>4.2.1 Histologi Pankreas.....</b>	<b>32</b>
<b>4.2.2 Histologi Hepar.....</b>	<b>34</b>
<b>4.3 Pembahasan Pengaruh Jintan Hitam dan Fenugreek Terhadap Kadar SGOT dan SGPT .....</b>	<b>36</b>
<b>4.4 Pembahasan Pengaruh Jintan Hitam dan Fenugreek Terhadap Histologi Pankreas dan Histologi Hepar.....</b>	<b>37</b>
<b>4.4.1 Histologi Pankreas.....</b>	<b>37</b>
<b>4.4.2 Histologi Hepar.....</b>	<b>40</b>

<b>BAB V PENUTUP .....</b>	<b>44</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>44</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>45</b>
<b>Lampiran</b>	

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu penyakit degeneratif yang menjadi penyebab kematian terbesar ke-3 di Indonesia setelah Stroke dan penyakit Jantung Koroner (Kemenkes RI, 2016). Berdasarkan data dari 220 negara di seluruh dunia, penderita DM melonjak sangat signifikan dari 415 juta kasus pada tahun 2015 menjadi 642 juta kasus pada tahun 2040, dimana Indonesia berada pada urutan 7 dunia setelah China, India, Amerika Serikat, Brazil, Rusia, dan Meksiko. Kabar buruknya, Indonesia diperkirakan akan naik pada urutan 6 dunia pada tahun 2040 (International Diabetes Federation, 2015 dalam Tandra 2017).

Penyakit ini bisa terjadi karena adanya hiperglikemi atau meningkatnya kadar glukosa darah yang menyebabkan pankreas tidak bisa mensekresikan hormon insulin yang cukup atau tubuh tidak bisa menggunakan insulin secara efektif (International Diabetes Federation, 2017). Berlebihnya kadar glukosa dalam darah seringkali terjadi karena berlebihnya asupan makanan dan minuman yang mengandung glukosa. Oleh karena itu konsumsi untuk makanan dan minuman tersebut harus sesuai dengan kebutuhan dan tidak berlebihan dimana dalam agama islam sudah ada anjuran tentang hal ini karena segala sesuatu di dunia ini sudah Allah SWT ciptakan sesuai dengan takaannya masing-masing. Hal ini tercantum di dalam kitab suci-Nya yaitu dalam al-Quran khususnya Allah SWT berfirman dalam Q.S As-Syu'ara [26] ayat 7-8:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ

*Artinya: 7. dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?. 8. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. dan kebanyakan mereka tidak beriman.*

Berdasarkan tafsir tersebut, dapat diketahui bahwa Allah SWT menumbuhkan beranekaragam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia. Kata زوج كريم bermakna “tumbuh-tumbuhan yang baik”. Tanaman yang baik yang dimaksud adalah tanaman yang bermanfaat dan tidak bersifat merugikan, yang salah satunya bermanfaat dalam pengobatan (Al-

Qarni,2008). Manfaat pengobatan dari tanaman dikaji dalam penelitian ini dengan pemanfaatan ekstrak biji Jintan hitam (*Nigella sativa L.*) dan Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum L.*).

Pada ayat di atas jika dirincikan bisa dimaknai bahwa Allah SWT menciptakan seluruh ciptaan-Nya meliputi tumbuhan, hewan, manusia dan semua penyusunnya sudah sesuai dengan ukuran dan kebutuhannya secara tepat dan sempurna (JavanLabs, 2015). Disebutkan dalam tafsir al-Wajiz bahwa Allah SWT memberikan segala sesuatu dengan kadar dan ukuran yang sesuai kepada seluruh ciptaan-Nya dimana akan terjadi ketidakseimbangan yang akan menimbulkan hal buruk jika tidak sesuai dengan ukuran dan tempatnya (az-Zuhaili, 2021). Jika dikaitkan dengan salah satu kasus tentang kadar glukosa darah yang berlebih akan mampu menimbulkan Diabetes melitus.

Pada DM tipe 2, akan ditemukan adanya kerusakan pada sel-sel  $\beta$  pankreas. Sel ini merupakan sel dimana terjadi sintesis insulin yang kemudian akan diekskresikan (Sherwood L, 2009). Hormon insulin yang dihasilkan berperan dalam menurunkan kadar glukosa, asam amino dan asam lemak dalam darah serta mendorong untuk penyimpanannya (Sherwood L, 2009). Jika sel  $\beta$  pancreas mengalami kerusakan yang terjadi secara progresif, maka akan menyebabkan terjadinya defisiensi insulin dimana penderita akan membutuhkan insulin eksogen (Kahn *et al.*,2014). Hal ini dapat terjadi karena berkurangnya jumlah sel  $\beta$  pankreas tidak dapat diimbangi dengan pembentukan sel baru, karena pankreas manusia tidak mampu untuk memproduksi sel-sel ini pada usia diatas 30 tahun (Pearl *et al*, 2010).

Insulin memiliki peran yang sangat penting dalam metabolisme glukosa dimana hormon ini akan bertugas memecah glukosa yang diserap masuk ke tubuh menjadi glikogen yang akan disimpan dan digunakan sebagai cadangan makanan. Hormon insulin akan disekresikan oleh sel  $\beta$  pankreas pada retikulum endoplasma jika ada rangsangan seperti peningkatan kadar glukosa di dalam darah. Hormon ini selanjutnya akan berikatan dengan *insulin receptors substrate* pada membran sel di jaringan perifer dan akan menghasilkan sinyal agar segera meregulasi dan memproses metabolisme glukosa di dalam sel. Proses regulasi dan metabolisme ini juga terjadi di hepar.

Proses regulasi dan metabolisme yang terjadi pada hepar dilakukan untuk proses homeostasis kadar glukosa di dalam tubuh, dalam hal ini khususnya kadar glukosa puasa berupa kadar glukosa endogen yang berasal dari proses glukoneogenesis dan glikogenolisis yang

kadarnya meningkat. Pada kondisi ini, insulin akan mengambil peran dengan pada efek inhibisi kerja pada metabolisme tersebut. Jika resisten insulin terjadi, kemampuan menginhibisi glukoneogenesis dan glikogenolisis akan berkurang yang menyebabkan terjadinya peningkatan produksi kadar glukosa darah pada hepar (Sudoyo *et al*, 2009). Meningkatnya kadar glukosa darah ini selanjutnya akan mengganggu metabolisme lainnya dan akan menghasilkan zat radikal bebas. Radikal bebas (oksidan) adalah molekul yang mempunyai satu elektron yang tidak berpasangan atau lebih. Dalam kondisi tubuh yang normal, radikal bebas ini diproduksi dengan diimbangi dengan antioksidan. Namun jika kondisi glukosa yang homeostasis terganggu, maka kadar radikal bebas dalam tubuh akan melimpah hingga menyebabkan stress oksidatif (Bayir, 2005). Zat ini dapat merusak sel-sel hepar karena hepar juga berperan dalam menghancurkan zat-zat toksik termasuk radikal bebas yang dihasilkan dari proses diatas, sehingga sel-sel hepar akan sangat berpeluang untuk terjadi kerusakan karena terakumulasinya zat tersebut (Long *et al*, 2012). Selain itu, peningkatan stres oksidatif juga dapat berakibat dalam menurunnya konsentrasi insulin (Hoeldtke *et al*, 2003). Hal ini dapat terjadi karena sel  $\beta$  pankreas dapat menjadi tujuan utama stres oksidatif karena kandungan antioksidan endogen yang rendah pada jaringan pulau langerhans pada pankreas (Azavedo *et al*, 2003; Kajikawa *et al*, 2002).

Kasus DM yang seringkali ditemui adalah Diabetes Melitus tipe 2 dimana banyak yang ditandai dengan adanya resistensi insulin. Menurunnya sensitivitas insulin saat kadar glukosa meningkat tidak langsung menyebabkan DM. Dalam keadaan ini kadar glukosa masih dapat distabilkan oleh sel  $\beta$  pankreas dengan menghasilkan insulin. Namun jika tidak teratasi maka ada kemungkinan untuk terkena penyakit DM tipe 2. DM tipe 2 ini banyak terjadi pada obesitas dimana terdapat kadar lemak yang tinggi di tubuh (Hasanuddin dkk., 2019). Perlemakan hepar bisa saja terjadi karena efek samping dari obesitas, dimana hal ini dapat memacu peningkatan kadar GOT (*Glutamic Oxalocetic Transaminase*) dan GPT (*Glutamic Piruvic Transaminase*) (Soegondo, 2006).

SGOT adalah salah satu enzim yang digunakan untuk mendeteksi adanya nekrosis atau trauma pada suatu jaringan. Pada kasus DM, SGOT digunakan dalam pemeriksaan laboratorium untuk penilaian seberapa parah kerusakan pada hepar yang terjadi. Namun enzim ini juga ditemukan di organ lain selain hepar (Qodriyatiet al. 2016). Sedangkan kadar SGPT yang

meningkat dalam serum darah bisa diasumsikan telah terjadi kerusakan pada hepar. Hal ini dikarenakan SGPT akan keluar ke serum darah dari sel hepar jika terjadi kerusakan pada hepar, sehingga SGPT ini dianggap lebih spesifik untuk mendeteksi kerusakan jaringan hepar dibanding SGOT (Tanoeisan, 2009). Selain itu, SGOT dan SGPT yang meningkat dapat disebabkan adanya kerusakan atau perubahan permeabilitas dinding sel hepar, sehingga keduanya dimanfaatkan sebagai penanda adanya gangguan integritas pada sel hepar hepatoseluler (Rosida, 2016).

Saat ini, penelitian tentang obat alami dengan tujuan sebagai upaya untuk menemukan obat guna menyembuhkan diabetes melitus masih terus dilakukan. Hal serupa dengan saran Nabi Muhammad SAW pada salah satu sahabat yang terkena suatu penyakit. Sahabat tersebut menanyakan kepada Nabi Muhammad SAW tentang apakah dia harus berobat, atau pasrah dengan sakitnya, atau hanya terus memohon kesembuhan kepada Allah SWT. Cerita ini terabadikan dalam sebuah hadits yang diriwayatkan oleh At-Turmidzi, Ibn Majah, Abu Daud dan Ahmad sebagai berikut:

عن أسامة بن شريك رضي الله عنه، قال: ((قالت الأعراب: يا رسول الله، ألا نتداوى قال: نعم، يا عباد الله تداؤوا؛ فإن الله لم يَصنع داءً إلا وضع له شفاءً،

*Artinya: Usamah bin Syarik, semoga rahmat Allah senantiasa menyertainya, berkata; Seorang Arab berkata kepada Nabi; “Wahai Rasulullah, apakah kami harus berobat? Lalu Nabi menjawab: “Iya, berobatlah wahai hamba-hamba Allah, karena Allah tidak menciptakan penyakit, kecuali juga menciptakan obatnya”, (HR. Ahmad No.17726).*

Mengacu pada hadits diatas, maka perlu bagi umat islam dan manusia pada umumnya untuk berobat jika terkena suatu penyakit. Dalam kasus diabetes melitus ini, sudah ada obat yang digunakan untuk menyembuhkan. Namun usaha untuk lebih mendalami tentang bahan-bahan alam sebagai obat DM masih terus dilakukan. Hal ini yang melatarbelakangi untuk dilakukannya penelitian ini. Dalam penelitian ini penggunaan dua jenis tanaman yaitu Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dan Fenugreek atau Klabet (*Trigonella foenum graceum* L.) yang akan dikombinasikan dengan harapan dapat menurunkan atau bahkan menyembuhkan efek dari penyakit DM ini. Fenugreek dikenal sebagai tanaman obat yang mempunyai beberapa manfaat seperti menurunkan hiperkolesterolemia, antihiperlikemik, gastrotektik, serta bisa sebagai antioksidan (Nathiya, 2014).

Pada penelitian-penelitian terdahulu, ekstrak biji jintan hitam dilaporkan berpotensi sebagai antidiabetes yang ditunjukkan pada penelitian yang dilakukan Khanam *et al.* (2008) bahwa kadar glukosa dan kolesterol yang tinggi pada tikus diabetes dapat kembali normal setelah pemberian ekstrak jintan hitam mentah. Dalam penelitian yang dilakukan Najmi *et al.* (2012) menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan pada penurunan HbA1c dan profil lipid setelah pemberian jintan hitam 1 kapsul sehari yang dilakukan selama dua bulan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Halim pada tahun 2013 menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan terhadap turunnya kadar kolesterol total pada penderita DM tipe 2 dengan diberikan 6 kapsul dalam sehari yang dilakukan selama dua minggu. Selanjutnya pada penelitian yang dilakukan oleh Afdin *et al.* (2018) menyatakan bahwa ekstrak jintan hitam mempunyai efek hepatoprotektor dari kerusakan hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *sparague dawley* yang diinduksi menggunakan ethanol, hasil menunjukkan bahwa ekstrak jintan hitam dengan dosis 50% memberikan visualisasi degenerasi lemak yang ringan/minimal pada hepar tikus putih yang rusak akibat induksi ethanol. Hal ini kemungkinan bisa terjadi karena zat kimia yang dominan terkandung dalam jintan hitam adalah Thymoquinone yang berperan sebagai antioksidan dan hepatoprotektor (senyawa yang mampu memberikan perlindungan hepar dari kerusakan dari zat-zat beracun, baik senyawa kimia maupun dari virus).

Pada ekstrak dari biji fenugreek telah dilaporkan dapat menghasilkan senyawa yang mampu menurunkan kadar glukosa dalam darah. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Subramanian & Prasath tahun 2014 menyatakan bahwa ekstrak dari biji fenugreek dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah tikus yang telah diinduksi dengan pakan tinggi lemak (PTL) atau *High Fed Diet* (FED) dan *Streptozotocin* (STZ) dengan dosis yang rendah. Selain itu, hasil penelitian ini juga menunjukkan hasil bahwa ekstrak biji fenugreek berhasil menurunkan kadar lipid darah dengan dosis 150 mg/kg bb yang dilakukan selama 30 hari. Dalam penelitian lain, Kulkarni *et al.* (2012) menunjukkan hasil bahwa ekstrak biji fenugreek dengan dosis 100 mg/kg bb yang dilakukan selama 28 hari dapat menurunkan kadar glukosa darah secara signifikan pada tikus sebesar 31.59% pada tikus yang mengalami DM tipe 2 dengan diinduksi STZ dan gliburida yang digunakan sebagai pembanding dalam penelitian tersebut.

STZ merupakan senyawa yang tidak mudah teroksidasi yang membentuk oksidan atau radikal bebas yang sangat reaktif. Radikal bebas ini akan menimbulkan kerusakan pada *deoxyribonucleic acid* (DNA), protein, dan membran sel yang mengakibatkan gangguan dalam produksi insulin oleh sel  $\beta$  pankreas (Wilson, 1988). Pada penelitian yang dilakukan oleh Kaviarasan dan Anuradha (2007) menunjukkan bahwa ekstrak polifenol dari biji fenugreek juga mampu menyembuhkan cedera pada hepar dan mengurangi kerusakan yang terjadi akibat induksi alkohol pada hepar dan detoksifikasi enzim dan komponen transpor elektron sitokrom-c reduktase. Selain itu juga mampu untuk meningkatkan viabilitas sel hati dan mengurangi inti apoptosis pada hepar tikus yang diamati. Temuan ini menunjukkan bahwa ekstrak polifenol dari biji fenugreek dapat berperan sebagai agen hepatoprotektor yang sebanding dengan agen hepatoprotektor yang sudah diketahui seperti silymarin.

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, perlu untuk dilakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak biji jintan hitam yang dikombinasikan dengan fenugreek terhadap kadar GOT, GPT, histologi pankreas dan histologi hepar pada mencit yang diinduksi dengan Streptozotocin.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa L.*), ekstrak fenugreek (*Trigonella foenum-graceum L.*), serta kombinasi ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa L.*) dan fenugreek (*Trigonella foenum-graceum L.*) pada GOT, GPT, dan gambaran histopatologi hepar dan pankreas mencit (*Mus musculus*) yang di induksi Streptozotocin?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Berdasarkan rumusan masalah tersebut maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa L.*), ekstrak fenugreek (*Trigonella foenum-graceum L.*), serta kombinasi ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa L.*) dan fenugreek (*Trigonella foenum-graceum L.*) pada GOT, GPT, dan gambaran histopatologi hepar dan pankreas mencit (*Mus musculus*) yang di induksi Streptozotocin.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi tentang potensi ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) yang dikombinasikan dengan fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) terhadap kadar SGOT, SGPT, histologi pankreas dan histologi hepar pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan Streptozotocin.
2. Memberikan alternatif solusi pengobatan penyakit Diabetes Millitus.
3. Dapat digunakan sebagai dasar pengembangan penelitian selanjutnya.

### **1.5 Hipotesis Penelitian**

Hipotesis dari penelitian ini adalah potensi ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) yang dikombinasikan dengan fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) terhadap kadar GOT, GPT, histologi pankreas dan histologi hepar pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan Streptozotocin.

### **1.6 Batasan Masalah**

Batasan masalah yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) yang berusia 12 minggu dengan memiliki jenis kelamin jantan serta rata-rata berat badan adalah 30-40 g.
2. Dosis streptozotocin untuk induksi pada mencit yang digunakan adalah 45 mg/kg BB selama 3 hari dan 60 mg/kg BB selama 2 hari dengan selang 1 hari.
3. Dosis ekstrak yang digunakan adalah 200 mg/kg BB Jintan Hitam dan 100 mg/kg BB Fenugreek serta kombinasi keduanya dengan dosis 100 mg/kg BB Jintan Hitam dan 50 mg/kg BB Fenugreek.
4. Kontrol positif menggunakan obat metformin dengan dosis 65 mg/kg BB
5. Parameter yang digunakan adalah kadar kadar GOT, GPT, histologi pankreas dan histologi hepar mencit.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) adalah penyakit akibat gangguan metabolic yang mengakibatkan tubuh dalam kondisi hiperglikemia (Longo *et al.*, 2012). Penyakit ini menurut WHO (2010) digolongkan dalam penyakit kronik yang diakibatkan karena pankreas yang tidak dapat memproduksi insulin dengan jumlah yang cukup atau bisa juga karena tubuh tidak dapat menggunakan insulin secara maksimal. Penyakit ini didiagnosa berdasarkan pada kadar glukosa darah dimana pada penderita memiliki kadar acar diatas 200 mg/dl serta kadar glukosa darah puasa diatas 126 mg/dl (Suhariningsih *et al.*, 2020).

##### 2.1.1 Klasifikasi Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus berdasarkan dari *NIH Diabetes Data Group* pada tahun 1979 diklasifikasikan berdasarkan terapi farmakologinya yaitu Insulin-Dependent Diabetes Mellitus (IDDM) dan Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM). Pada tahun 1997, klasifikasi tersebut sudah tidak berlaku lagi karena dianggap tidak mewakili dari proses patogenesis dan etiologi dari setiap jenis penyakit ini. Kemudian beberapa komite diabetologis internasional memberi saran untuk mengubah berdasarkan patogenesis dan etiologinya dan sudah disahkan oleh ADA (*The American Diabetes Association*) dan WHO (*World Health Organization*) sebagai berikut (gardner *et al.*, 2007):

Jenis	Etiologi
Tipe 1	Destruksi sel $\beta$ pancreas, pada umumnya mengarah ke defisiensi insulin absolut <ul style="list-style-type: none"><li>• Autoimun</li><li>• Idiopatik</li></ul>
Tipe 2	Bervariasi, mulai dari resistensi insulin yang disertai dengan defisiensi insulin relatif sampai defek sekresi insulin yang disertai dengan resistensi insulin

Tipe Lain	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Defek genetik fungsi</li> <li>• Defek genetik kerja insulin</li> <li>• Penyakit eksokrin pankreas</li> <li>• Endokrinopati</li> <li>• Karena obat atau zat kimia</li> <li>• Infeksi</li> <li>• Sebab imunologi (jarang)</li> <li>• Sindrim genetik lain yang berkaitan dengan DM</li> </ul>
Diabetes Mellitus Gestasional	Intoleransi glukosa yang timbul atau terdeteksi pada kehamilan pertama dan gangguan toleransi glukosa setelah terminasi kehamilan

Sumber: PERKENI, 2011

#### 1. Diabetes Mellitus Tipe 1

Diabetes Mellitus Tipe 1 adalah keadaan hiperglikemia yang disebabkan oleh terjadinya kerusakan atau destruksi sel  $\beta$  pancreas. Destruksi ini bisa disebabkan karena autoimun yang terjadi pada 95% dari total kasus DM tipe 1 dan sisanya sekitar 5% disebabkan oleh idiopatik. DM tipe 1 ini dapat juga disebut sebagai gangguan katabolisme karbohidrat yang ditandai dengan tidak ditemuinya insulin dalam sirkulasi darah, meningkatnya glukason plasma dan sel  $\beta$  pankreas gagal dalam merespon stimulaso insulinogenik. Karena tidak adanya insulin ini maka hepar, otot dan lemak tidak bisa menyerap nutrisi dan tidak bisa melanjutkan distribusi, asam lemak, asam amino dan glukosa dalam sirkulasi darah. Sehingga penderita DM tipe 1 ini sangat bergantung pada pemberian insulin dari luar tubuh. DM tipe 1 ini biasanya terjadi pada anak-anak dengan puncaknya pada usia anak belum sekolah dan sekitar masa pubertas (gardner *et al.*, 2007).

#### 2. Diabetes Mellitus Tipe 2

Diabetes Mellitus Tipe 2 adalah penyakit heterogen yang dapat dikenali dengan adanya resistensi insulin, gangguan dalam sekresi insulin dan meningkatnya produksi glukosa. Resistensi insulin ini dapat terjadi jika sel-sel dalam tubuh tidak

dapat merespon sinyal insulin yang menyebabkan glukosa dalam sirkulasi darah tidak dapat dipindahkan ke sel untuk sumber energi. Hal ini menyebabkan glukosa akan terakumulasi dalam sirkulasi dan tidak dapat digunakan sebagai sumber energi oleh sel (Östenson, 2001). Resistensi insulin ini dapat diakibatkan karena faktor penuaan, gaya hidup dan obesitas. Oleh karena itu, penderita penyakit ini tidak selalu membutuhkan insulin dari luar tubuh seumur hidup dan bisa dengan pemberian obat anti diabetes (OAD). DM tipe 2 ini biasanya terjadi pada usia lebih dari 40 tahun dengan tingkat obesitas yang berbeda (gardner *et al.*, 2007)

### 3. Diabetes Mellitus Gestasional

Diabetes Mellitus Gestasional merupakan diabetes yang terjadi pada masa kehamilan. Pada masa hamil, intoleransi glukosa dapat terjadi dan berhubungan dengan resistensi insulin yang akan menyebabkan perubahan metabolisme pada masa akhir kehamilan. Kebutuhan insulin akan meningkat pada masa akhir kehamilan sehingga jika sampai terjadi diabetes akan mengakibatkan gangguan toleransi glukosa (gardner *et al.*, 2007).

## 2.2 Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas merupakan suatu atom, beberapa grup atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluar. Radikal bebas ini sangat tidak stabil sehingga akan mengambil elektron dari senyawa atau zat berbeda yang berada di dekatnya. Pengambilan elektron ini menyebabkan senyawa atau zat lain akan kekurangan elektron sehingga menjadi senyawa radikal. Proses ini terus berantai hingga produk akhir yang disebut dengan peristiwa oksidasi (Muchtadi, 2009). Radikal bebas dapat bersifat endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen dapat dihasilkan tubuh secara alami dan radikal bebas eksogen dihasilkan oleh lingkungan luar (Rao *et al.*, 2011).

Radikal bebas memiliki sifat yang mirip dengan oksidan, yaitu sama-sama memiliki kecenderungan untuk menarik elektron. Sehingga radikal bebas dan oksidan adalah sama-sama penerima elektron. Oleh karena itu, dalam kepustakaan kedokteran radikal bebas digolongkan dalam oksidan. Namun perlu digarisbawahi bahwa radikal bebas adalah oksidan, dan setiap oksidan tidak selalu merupakan radikal bebas. Radikal bebas ini lebih berbahaya dari oksidan

yang bukan radikal (Suryohudoyo, 2007). Oleh karena itu, radikal bebas sering mengakibatkan terjadinya suatu penyakit dan dapat juga mengakibatkan gangguan transduksi sinyal pada jalur metabolisme tubuh (Moskovitz *et al.*, 2002).

Radikal bebas ini dapat menyebabkan penyakit degeneratif yang berawal dari rusaknya sel. Rusaknya sel karena radikal bebas ini dapat terjadi karena adanya kerusakan pada protein yang disebabkan terganggunya aktivitas enzim. Rusaknya sel karena adanya kerusakan pada asam nukleat yang bisa terjadi karena mutasi. Selain itu, rusaknya sel ini juga dapat terjadi karena kerusakan pada lipida karena fluiditas membran yang terganggu. Hal-hal ini akan mengakibatkan perkembangan dan pertumbuhan sel menjadi tidak wajar hingga dapat menyebabkan kematian pada sel (Muchtadi, 2009).

Radikal bebas dan peroksidasi lipid mengambil peran penting pada patogenesis beberapa penyakit seperti Diabetes Mellitus, aterosklerosis, kanker, dan penuaan dini. Mekanisme yang terjadi dalam DM bukan hanya meningkatkan glikosilasi non-enzimik dan auto-oksidatif, namun juga dapat berkaitan dengan stres metabolik yang dapat disebabkan oleh perubahan metabolisme energi, status antioksidan sebagai sistem pertahanan dan tingkat peradangan. Pada penderita DM telah terbukti terjadi peningkatan stres oksidatif karena berlebihnya produksi radikal bebas dan menurunnya efisiensi terhadap pertahanan antioksidan. Radikal bebas juga sangat berperan pada patogenesis komplikasi DM (Memisogullari *et al.*, 2013).

Pada kasus kerusakan sel dan jaringan karena radikal bebas, antioksidan memiliki peran pencegahan yang sangat penting. Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan memberikan salah satu elektrinya (Flora, 2007). Menipisnya kadar antioksidan pada kasus penyakit DM dapat menimbulkan komplikasi. Komplikasi ini dapat disebabkan karena terjadinya penurunan antioksidan plasma secara signifikan. Antioksidan plasma ini diantaranya seperti  $\beta$ - dan  $\alpha$ -carotene, , lycopene,  $\beta$ -cryptoxanthin,  $\alpha$ - dan  $\gamma$ -tocopherol, lutein, retinol, zeaxanthin dan asam askorbat. Komplikasi yang dapat disebabkan seperti aterosklerosis dan disfungsi endotel (Dembinska-Kiec *et al.*, 2008).

Mekanisme yang mendasari penyakit DM dan komplikasinya ini adalah stres oksidatif yang terjadi saat radikal bebas yang dihasilkan tubuh sudah berlebih dan tidak mampu diimbangi oleh antioksidan. Pada penyakit DM, autooksidasi glukosa dan protein glikasi dapat

menghasilkan radikal bebas yang bisa mengkatalisis peroksidasi lipid (Courday *et al.*, 1999). Peroksidasi lipid ini dapat terjadi karena keadaan hiperglikemia. Hiperglikemia merupakan keadaan saat tubuh gagal dalam menjaga keseimbangan glukosa dan mengakibatkan inteoleransi glukosa. Radikal bebas dapat menginduksi peroksidasi lipid membran yang akan menyebabkan terjadinya malfungsi dari sel (Smriti *et al.*, 2015).

### 2.3 Streptozotocin

Streptozotocin (STZ, *2-deoxy-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-Dglucopyranose*) merupakan agen diabetogenik yang memiliki kemampuan toksik yang dapat mendestruksi sel- $\beta$  pankreas. Struktur dari STZ ini merupakan derivat dari *N-nitrosurea* dan *D-glukosamin* yang disintesis dari mikroorganisme tanah *Streptomyces achromogenes* (Raza *et al.*, 2013). Senyawa ini mempunyai banya pengaruh pada proses biologis seperti pada produksi kerusakan sel akut dan kronik, teratogenik, karsinogenik, dan mutagenesis. Pada banyak penelitian, senyawa ini banyak digunakan untuk menginduksi hewan coba sehingga kondisi hewan tersebut menjadi sama dengan kondisi DM. Biasanya dosis yang digunakan antara 40-60 mg/kg BB yang diinjeksi pada intravena. Selain pada intravena, senyawa ini efektif juga jika diinjeksikan lewat intraperitoneal dengan dosis yang serupa. STZ ini bekerja secara langsung dengan membuat kerusakan pada proses degranulasi dan menurunkan kapasitas sekresi insulin pada sel  $\beta$  pankreas dengan menggunakan GLUT-2 yang mengakibatkan rusaknya DNA (Zafar *et al.*, 2010; Tian *et al.*, 2010). Saat DNA dalam sel sudah rusak maka poli ADP-ribosilase akan teraktivasi sehingga akan terbentuklah radikal bebas yang bisa merusak sel  $\beta$  pankreas (Szkudelski, 2001). Oleh karena itu, senyawa ini biasa digunakan sebagai agen diabetogenik karena dapat menghambat sekresi insulin pada pankreas (Lenze, 2008).

STZ merupakan senyawa pendonor nitrit oksida (NO) yang dapat mengakibatkan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas (Szkudelski, 2001). Nitrit Oksida adalah molekul yang berperan penting dalam persinyalan fisiologis di sistem syaraf pusat. Senyawa ini dapat menjadi berbahaya saat diproduksi berlebihan. NO saat mengalami reaksi oksidatif akan membentuk senyawa beracun yang disebut dengan stres nitrosatif. Keadaan ini dapat mengakibatkan

kerusakan sel jika kadar NO lebih tinggi dari antioksidan (Richa *et al.*, 2017). NO jika berikatan dengan zat besi akan menghambat aktivitas enzim aconitase dan akan mengakibatkan pengurangan jumlah ATP. DNA yang rusak akibat induksi STZ akan mengaktifkan ADP ribolasi yang menyebabkan penipisan NAD<sup>+</sup> seluler dan menurunnya ATP lebih lanjut hingga akhirnya terjadi penghambatan dalam sintesis dan sekresi insulin (Szkudelski, 2001).

Nitrit Oksida adalah stres oksidatif yang bisa merusak sel. Kemudian, dengan adanya defosforilasi ATP bisa meningkatkan substrat xantin. Meningkatnya substrat ini akan membuat sel  $\beta$  pankreas sangat peka pada enzim ini yang kemudian akan memproduksi hidrogen peroksida dan radikal hidroksil. Pada akhirnya, gabungan antara nitrit oksida dan berbagai jenis zat oksigen reaktif ini akan mengakibatkan fragmentasi DNA (Szkudelski, 2001). Selain itu, STZ juga bisa merusak DNA melalui proses metilasi DNA dan akan terbentuk ion karbonium (CH<sub>3</sub><sup>+</sup>). Setelah itu, enzim *poly ADP-ribose synthetase* (PARP) akan diaktifkan untuk memperbaiki DNA yang rusak. Aktivasi ini akan mengakibatkan deplesi NAD<sup>+</sup> dan persediaan ATP serta akhirnya nekrosis pada sel  $\beta$  pankreas terjadi (Eleazu *et al.*, 2013).

#### **2.4 SGOT (*Serum Glutamic Oxaloasetic Transaminase*) dan SGPT (*Serum Glutamic Pyruvic Transaminase*)**

SGOT (*Serum Glutamic Oxaloasetic Transaminase*) dan SGPT (*Serum Glutamic Pyruvic Transaminase*) merupakan jenis enzim aminotransferase yang sering digunakan untuk diagnosa klinis pada kerusakan sel hepar. Enzim-enzim tersebut merupakan enzim pelaku detoksifikasi dalam hepar yang bisa digunakan sebagai parameter terjadinya kerusakan pada hepar (Meyes *et al.*, 1991). Aminotransaminase merupakan sekelompok enzim yang berperan sebagai katalisator pada proses berpindahnya gugus amino dari asam alfa amino ke asam alfa keto. Enzim ini merupakan enzim plasma non fungsional yang tidak berperan dalam fungsi fisiologik dalam darah (Meyes *et al.*, 1991).

Kadar enzim SGOT dan SGPT akan meningkat apabila terjadi pelepasan enzim secara intra-seluler ke dalam darah yang disebabkan oleh nekrosis pada sel-sel hepar atau karena adanya kerusakan yang akut pada hepar (Wibowo *et al.*, 2008). Kadar normal SGOT pada mencit adalah diantara 2,1 – 23,8 IU/L. Sedangkan kadar normal SGPT pada mencit adalah diantara 23,2 – 48,4 IU/L (Arfeliana, 2010).

Jaringan hepar merupakan jaringan yang banyak mengandung SGOT dan SGPT (Meyes *et al.*, 1991). Dengan adanya kenaikan SGOT saja bisa diartikan terdapat kelainan hepar yang didominasi oleh kerusakan mitokondria. Hal ini bisa terjadi karena SGOT terletak dalam sitosol dan mitokondria. SGOT selain bisa ditemukan di hepar, juga bisa ditemukan di otot rangka, ginjal, otak, dan jantung (Meyes *et al.*, 1991). SGOT adalah enzim di dalam tubuh yang akan segera terdeteksi jika memasuki sirkulasi perifer. Saat terjadi nekrosis atau trauma pada suatu jaringan, pada pemeriksaan laboratorium akan digunakan untuk mengetahui seberapa luas kerusakan pada jaringan hepar yang terjadi. Karena enzim ini juga terdapat di jantung, maka perubahan kadar SGOT tidak menutup kemungkinan juga terjadi karena adanya penyakit di jantung (Qodriyati *et al.*, 2016).

Prinsip yang digunakan dalam penentuan kadar enzim SGOT yaitu Glutamat Oksaloasetat Transaminase mengkatalisis reaksi antara asam  $\alpha$ -ketoglutarat dengan asam L-aspartat sehingga menghasilkan asam oksaloasetat dan asam L-glutamat. Dengan adanya MDH, asam oksaloasetat yang terbentuk akan tereduksi menjadi asam malat, dan dalam waktu bersamaan NADH akan diubah menjadi  $\text{NAD}^+$ . NADH akan diabsorpsi di Panjang gelombang 340 nm. Kecepatan menurunnya absorpsi Panjang gelombang tersebut adalah sebanding dengan aktivitas enzim SGOT (Amadea, 1987).

Namun dari keduanya, di dalam jaringan hepar kadar SGPT lebih banyak daripada SGOT (Meyes *et al.*, 1991). Karena banyaknya SGPT, enzim ini dianggap lebih spesifik dalam mendeteksi adanya penyakit yang akut daripada SGOT. Hal ini karena SGPT merupakan enzim yang hanya terdapat di dalam sitoplasma sel hepar (Speicher *et al.*, dalam Dedy, 2008). Apabila sel hepar mengalami kerusakan, SGPT akan keluar dari sel hepar sehingga kadarnya dalam serum darah akan meningkat (Qodriyati *et al.*, 2016). Prinsip yang digunakan dalam penentuan kadar SGPT adalah Glutamat Piruvat Transaminase mengkatalisis reaksi  $\alpha$ -ketoglutarat dengan L-alanin sehingga menghasilkan asam piruvat dan asam L-glutamat. Dengan adanya LDH, asam piruvat yang dibentuk akan tereduksi menjadi asam laktat, dan dalam waktu bersamaan NADH akan menjadi  $\text{NAD}^+$ . NADH ini dapat diabsorpsi pada Panjang gelombang 340 nm dimana kecepatan penurunan absorpsi tersebut dinilai sebanding dengan aktivitas SGPT (Amadea, 1987).

## 2.5 Pankreas

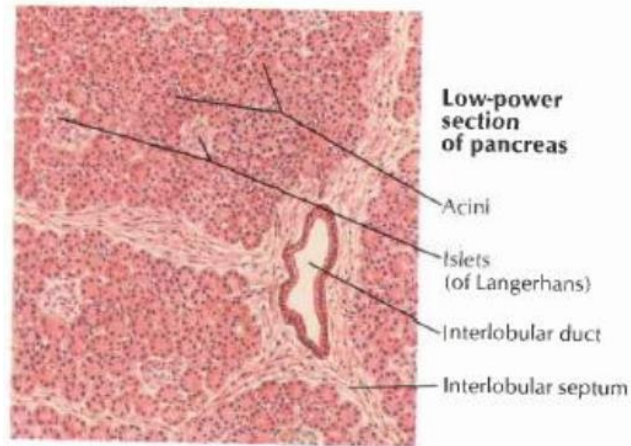
Pankreas merupakan kelenjang majemuk yang bertandan dan mempunyai struktur yang mirip dengan kelenjar ludah. Panjang dari organ ini sekitar 15 cm mulai dari duodenum hingga limpa. Pankreas terdiri dari 3 bagian. Bagian paling lebar yaitu kepala pankreas yang terletak di kanan rongga abdomen, di dalam lekukan duodenum serta melingkarinya. Bagian utama disebut badan pankreas yang terletak di depan vertebra lumbalis pertama dan di belakang lambung. Sedangkan ekor pankreas merupakan bagian meruncing di sebelah kiri yang menyentuh limpa (Pearce, 2009).

Pankreas merupakan organ yang terdiri dari endokrin dan eksokrin. Pada bagian endokrin, bagian sel-sel nya membentuk pulau Langerhans yang dikelilingi oleh jaringan ikat retikulin (Tallitsch *et al*, 2009). Jaringan ikat ini tersebar diantara asini yang merupakan bagian dari eksokrin pada organ pancreas. Pulau Langerhans memiliki diameter antara 0,1 – 0,2 mm dimana di dalamnya terdapat ribuan sel. Biasanya pulau Langerhans berbentuk *egg-shaped* dan terdiri dari banyak sel yang bentuknya bulat atau polygonal (Gartner *et al*, 2012; Mescher *et al.*, 2010). Pulau Langerhans ini berwarna lebih pucat jika dibandingkan dengan area eksokrin karena tidak terdapat granula zymogen di dalamnya (Gartner *et al*, 2012; Kuehnel *et al.*, 2002).

Sel-sel endokrin yang terbanyak di dalam pankreas adalah sel  $\beta$  (beta) dimana di dalamnya terjadi sintesis insulin yang kemudian akan diekskresikan. Selain sel  $\beta$ , di pankreas juga terdapat sel  $\alpha$  (alfa) yang berperan dalam menghasilkan glukagon dan sel D (delta) yang merupakan tempat sintesis somastostatin (Sherwood L, 2009). Hormon insulin yang dihasilkan oleh sel  $\beta$  mempunyai efek yang sangat penting dalam metabolisme protein, lemak, dan karbohidrat. Hormon ini berperan dalam menurunkan kadar glukosa, asam amino dan asam lemak dalam darah serta mendorong untuk penyimpanannya. Saat hormon ini memasuki aliran darah selama proses absorpsi, hormon ini akan mendorong penyerapan protein, lemak, dan karbohidrat serta mengubahnya masing-masing menjadi protein, trigliserida, dan glikogen (Sherwood L, 2009).

Bagian eksokrin pada organ pankreas dibagi dalam beberapa lobus oleh septa jaringan ikat. Lobus-lobus terbut dibagi lagi menjadi beberapa lobulus oleh jaringan ikat yang jumlahnya sedikit dan tidak ada batas pembatas yang tegas (Gartner *et al*, 2012). Bagian eksokrin ini terdiri dari sel-sel asiner yang bentuknya berupa piramid dan pada bagian basalnya terdapat inti sel.

Sel asiner ini memiliki karakteristik berupa sitoplasmanya bersifat basofilik terang pada sisi basalnya dan pada bagian apeks bersifat asidofilik granul zimogen (Mescher *et al.*, 2010; Kuehnel *et al.*, 2002).



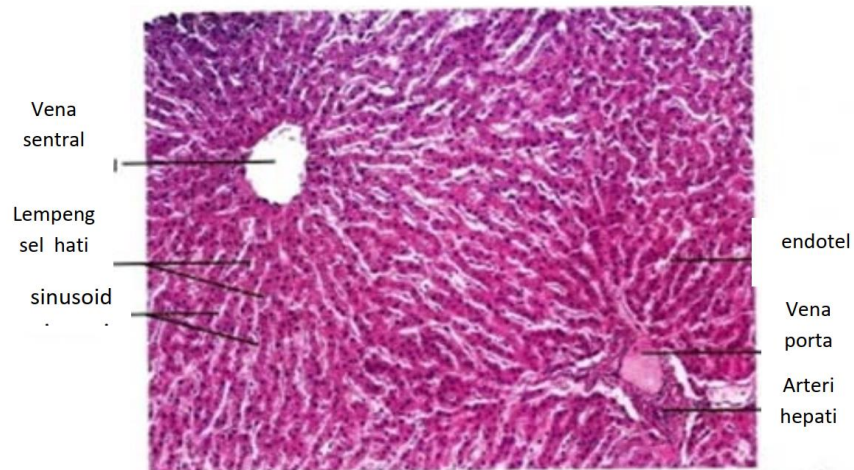
Gambar 2.1. Struktur pankreas (Netter, 2006)

## 2.6 Hepar

Hepar secara metabolisme merupakan organ yang paling kompleks di dalam tubuh. Organ ini memiliki berat sekitar 2 kg yang berada di bawah diafragma dalam rongga abdomen (Janquera *et al.*, 1998). Lebih tepatnya terletak pada kuadrat kanan atas yang menyatu dengan saluran bilier dan kantung empedu. Organ ini menerima peredaran darah dari sirkulasi sistemik melewati arteri hepatica serta menampung aliran darah dari system porta yang banyak mengandung zat makanan hasil absorbs usus. (Rosida, 2016).

Struktur hepar terdiri atas hepatosit atau sel-sel hepar yang berkelompok dan saling berhubungan sedemikian rupa sehingga membentuk lobulus hepar. Lobulus merupakan unit dasar fungsional pada organ hepar. Hepatosit berbentuk heksagonal dengan sel-sel parenkim yang dipisahkan oleh sinusoid. Pada pemisah parenkim ini dikelilingi endotel vaskuler yang menyebabkan darah dapat langsung berhubungan dengan hepatosit. Sel-sel parenkim hepatosit tersusun radier terhadap vena sentralis. Hepar juga memiliki sel kupfer yang berperan dalam fagositosis benda asing dan bakteri dalam darah (Janquera *et al.*, 1998).

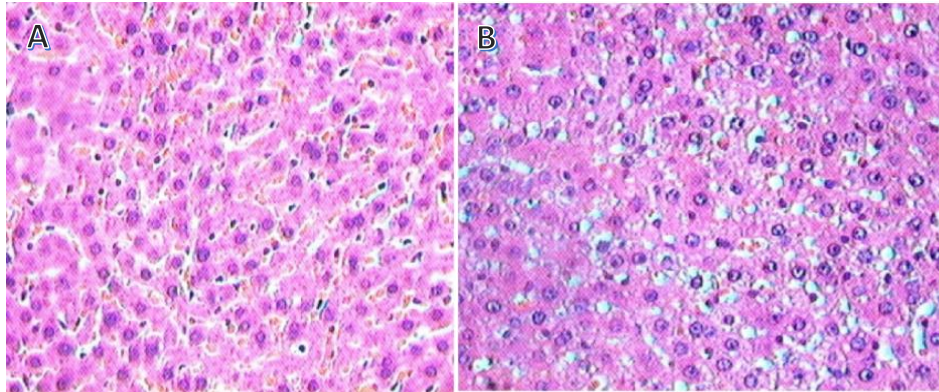
Fungsi utama hepar adalah untuk detoksifikasi zat-zat yang memasuki tubuh yang kemudian sisa detoksifikasi tersebut akan dibuang lewat empedu. Hepar juga berperan dalam mengolah sari makanan dari usus yang diangkut oleh pembuluh darah *vena porta*. Selain itu, hepar juga menerima darah juga dari *arteria hepatica* yang kemudian keluar dari hepar lewat *vena hepatica* yang akhirnya bermuara pada *cava inferior* yang terletak di dekat jantung. Hepar merupakan kelenjar gabungan antara kelenjar eksokrin dan endokrin. Peran sebagai kelenjar eksokrin adalah dengan menggetahkan empedu yang kemudian akan disimpan sementara pada kantung empedu (*vesica fellea*). Hepar juga menghasilkan protein dalam komponen darah yaitu globulin, fibrinogen, prothrombin, dan albumin. Sedangkan peran sebagai kelenjar endokrin adalah dengan menghasilkan glucagon yang berfungsi untuk glikogenolisis yang menguraikan glikogen menjadi sumber energi berupa glukosa (Yatim, 1990).



Gambar 2.2. Histologi Hepar Mencit Normal (Eroschenko, 2008)

Hepar adalah organ pertama yang akan diserang oleh *reactive oxygen species* (ROS) atau radikal bebas. Sel parenkim adalah sasaran utama ketika kondisi stres oksidatif yang menyebabkan cedera hepar. Mitokondria, peroksisom dan mikrosom pada sel parenkim dapat menghasilkan ROS. Selain itu organel tersebut juga berperan dalam mengatur PPAR, yang terutama berhubungan dengan ekspresi gen oksidasi asam lemak di hepar. Sel Kupffer dan sel endotel berpotensi lebih besar dalam terpapar stress oksidatif. Pada mamalia, sistem antioksidan telah berkembang sehingga mampu memelihara homeostatis redoks di hepar. Namun ketika ROS berlebihan, homeostatis akan terganggu dan mengakibatkan stress oksidatif yang berperan penting dalam penyakit hepar kronis dan penyakit degeneratif lainnya. Stres oksidatif tidak hanya memicu kerusakan hepar dengan cara menginduksi perubahan lipid, tetapi juga protein

dan DNA yang sulit untuk diperbaiki sehingga tidak mampu memodulasi jalur yang mengontrol fungsi biologis normal (Li et al., 2015).



Gambar 2.3. Gambaran histologi hepar tikus yang diwarnai menggunakan eosin dengan perbesaran x400. A: Histologi hepar tikus normal; B: Histologi hepar tikus diabetes yang diinduksi STZ (Qinna dan Badwan, 2015).

Pada hepar tikus yang terkena diabetes mellitus yang diinduksi dengan streptozotocin/STZ akan terlihat berwarna coklat kekuningan pada penampakan histologinya dengan pewarnaan eosin (Gambar 2.3b.). Selain itu, terlihat juga adanya steatosis hepatic difus atau perlemakan pada hepar yang jelas dengan susunan hepatosit yang tidak beraturan. Selain itu, Sinusoid terlihat menyempit dibandingkan dengan hepar tikus yang normal (Gambar 2.3a.) (Qinna dan Badwan, 2015).

## 2.7 Jintan Hitam

Jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan dari famili Ranunculales yang memiliki daun meruncing, bercabang dan bergaris dan terkadang ditemui daun tunggal atau bisa juga majemuk dengan posisi tersebar atau berhadapan. Pada bagian permukaan daunnya terdapat bulu halus. Bunga dari jintan hitam memiliki bentuk yang beraturan yang dapat menjadi buah dengan bentuk bumbung bulat panjang. Bunga dari tanaman ini berwarna biru pucat atau keunguan dengan jumlah mahkota 5 – 10 helai (Junaedi dkk, 2011).



Gambar 2.4. Tanaman Jintan Hitam (*Nigella sativa*) (Asif *et al.*, 2015)

Jintan hitam merupakan tumbuhan semak kecil setinggi 20 – 50 cm yang memiliki akar tunggang berwarna coklat. Sedangkan buahnya seperti buah buni dengan struktur yang keras yang berisi 3 – 7 unit folikel dimana masing-masing berisi banyak sekali biji yang berwarna hitam pekat dan biasa disebut *Habba Al-Sauda*. Biji ini seringkali dimanfaatkan sebagai rempah yang memiliki rasa yang pahit yang tajam (Junaedi dkk, 2011). Rincian klasifikasi taksonomi dari tanaman ini menurut ITIS (2011) adalah sebagai berikut:

Kingdom: Plantae

Divisi: Tracheophyta

Kelas: Magnoliopsida

Ordo: Ranunculales

Famili: Ranunculaceae

Genus: *Nigella*

Spesies: *Nigella sativa* L

Jintan hitam ini dalam bahasa Inggris dikenal dengan *black seed* dan dalam bahasa Arab sering disebut dengan *Habba Al-Sauda* yang berarti biji hitam. Selama berabad-abad, biji ini telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk berbagai macam penyakit. Biji tanaman ini digunakan sebagai zat kuratif dan pencegahan dari banyak penyakit terutama di Asia Tengah dan negara-negara Asia lain (Bayram, 2012). Karena ini-lah tanaman ini dianggap sebagai tanaman ajaib karena banyak sekali sejarah dan latar belakang dari agama terutama di negara-negara Islam (Razavi *et al.*, 2014). Bahkan, biji tanaman ini seringkali disebut obat dari segala jenis penyakit. Dalam Islam, tanaman ini pernah disinggung dalam perkataan Nabi Muhammad SAW dalam hadits Sahih Al-Bukhori nomor 5256 sebagai berikut:

حَدَّثَنَا يَحْيَى بْنُ بُكَيْرٍ حَدَّثَنَا اللَّيْثُ عَنْ عُقَيْلٍ عَنْ ابْنِ شِهَابٍ قَالَ أَخْبَرَنِي أَبُو سَلَمَةَ وَسَعِيدُ بْنُ الْمُسَيَّبِ أَنَّ أَبَا هُرَيْرَةَ أَخْبَرَهُمَا أَنَّهُ سَمِعَ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَقُولُ فِي الْحَبَّةِ السَّوْدَاءِ شِفَاءٌ مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا السَّامَ قَالَ ابْنُ شِهَابٍ وَالسَّامُ الْمَوْتُ وَالْحَبَّةُ السَّوْدَاءُ الثُّونْبِيرُ

*Artinya: “Telah menceritakan kepada kami Yahya bin Bukair (1) telah menceritakan kepada kami Al Laits (2) dari 'Uqail (3) dari Ibnu Syihab (4) dia berkata; telah mengabarkan kepadaku Abu Salamah (5) dan Sa'id bin Musayyib (6) bahwa Abu Hurairah (7) telah mengabarkan kepada keduanya, bahwa dia mendengar Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam bersabda: "Dalam habbatus sauda' (jintan hitam) terdapat obat dari segala penyakit kecuali kematian." Ibnu Syihab berkata; "Yang dimaksud kematian ialah maut sedangkan habbatus sauda' ialah pohon syuniz.” (HR. Al-Bukhori No. 5260).*

Dikutip dari perkataan Nabi Muhammad SAW diatas, sudah sangat jelas sekali disebutkan bahwa *Habba Al-Sauda* atau jintan hitam ini adalah obat dari berbagai macam penyakit. Dalam dunia ilmu sains, telah diketahui bahwa jintan hitam ini memiliki efek farmakologis yang terdapat nilai terapi seperti antiradang, analgetik, antialergi, antihistamin, antikanker, merangsang imun, antihipertensi, antiasma, antijamur, antivirus, antiparasit dan juga hipoglikemi (Junaedi dkk, 2011). Selain itu jintan hitam juga diketahui mengandung zat antioksidan yang sangat baik dimana zat ini mampu untuk menyeimbangkan radikal bebas yang berlebih di dalam tubuh yang dapat menimbulkan banyak jenis penyakit (Mozaffari et al., 2000).



Gambar 2.5 Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) (Asif et al., 2015)

Jintan hitam adalah tanaman yang dapat tumbuh di seluruh bagian dunia dimana umumnya terdapat di kawasan Mediterania, Timur Tengah, India, Pakistan, Suriah, Arab Saudi, Turki, dan Eropa Selatan (Ahmad et al., 2013). Jintan hitam memiliki unsur-unsur kimia seperti protein, lemak, vitamin A, vitamin B2, kalsium, niasin, asam askorbat, fiber, abu dan air. Selain itu juga diketahui mengandung banyak ekstrak esensial berupa 15 jenis asam amino seperti prolin, metionin, glutamat, glisin, sistin, asparagin, treonin, tirosin, triptofan, lisin, isoleusin,

arginin, dan alanin. Jintan hitam juga mengandung zat besi, kalium, natrium, riboflavin, tiamin, niasin, piridoksin, zinc dan tembaga. Sementara itu, kandungan utama dalam jintan hitam yaitu Dithymoquinone (DTQ), Thymoquinone (TQ), Thymohidroquinone (THQ) dan Thymol (THY) yang mengambil peran sebagai antioksidan (Mujahidatul dkk, 2012).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Afdin *et al.* (2018) menyatakan bahwa ekstrak jintan hitam mempunyai efek hepatoprotektor dari kerusakan hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *sparague dawley* yang diinduksi menggunakan ethanol, hasil menunjukkan bahwa ekstrak jintan hitam dengan dosis 50% memberikan visualisasi degenerasi lemak yang ringan/minimal pada hepar tikus putih yang rusak akibat induksi ethanol. Hal ini kemungkinan bisa terjadi karena zat kimia yang dominan terkandung dalam jintan hitam adalah Thymoquinone yang berperan sebagai antioksidan dan hepatoprotektor (senyawa yang mampu memberikan perlindungan hepar dari kerusakan dari zat-zat beracun, baik senyawa kimia maupun dari virus).

Selanjutnya pada penelitian yang dilakukan oleh Andaloussi *et al.*, (2008), ditemukan bahwa ekstrak ethanol dari biji jintan hitam mempunyai sifat antidiabetes. Hal ini dilakukan dengan penelitian ekstrak ethanol biji jintan hitam yang digunakan untuk pengobatan selama 18 jam pada kultur sel yang diinduksi DM, mampu meningkatkan sekresi insulin yang dirangsang glukosa lebih dari 35% tanpa mempengaruhi sensitivitas terhadap glukosa. Selain itu, pengobatan dengan jintan hitam juga mampu untuk secara bersamaan meningkatkan sekresi insulin, menginduksi proliferasi sel  $\beta$  pankreas, dan merangsang pengambilan glukosa dalam sel otot dan lemak.

## **2.8 Fenugreek**

Fenugreek atau tanaman Klabet (*Trigonella foenum graceum* L.) adalah tanaman dari famili Fabaceae. Tanaman ini adalah tanaman tahunan yang tumbuh tegak setinggi 30 – 60 cm. Daunnya berbentuk bulat telur terbalik hingga berbentuk baji. Bunga dari tanaman ini merupakan bunga tunggal atau sepasang yang muncul dari ketiak daun dan memiliki mahkota berwarna kuning terang. Tanaman ini memiliki buah polong gundul yang berbentuk lanset memanjang dan berisi 10 – 20 biji (Wharf & Kingdom, 2010). Biji Fenugreek berukuran sekitar 3,44 mm hingga 4,75 mm berwarna coklat dan bertekstur sangat keras serta memiliki wangi yang khas. Saat muda, bijinya berwarna hijau dan coklat gelap saat sudah matang atau tua. Biji

Fenugreek ini memiliki rasa pahit yang sering digunakan sebagai bumbu dapur karena mengandung nilai gizi dan khasiat yang tinggi (Patil, 2014). Rincian klasifikasi taksonomi dari tanaman ini menurut ITIS (2011) adalah sebagai berikut:

Kingdom: Plantae

Divisi: Tracheophyta

Kelas: Magnoliopsida

Ordo: Fabales

Famili: Fabaceae

Genus: *Trigonella*

Spesies: *Trigonella foenum-graecum*

Fenugreek merupakan tanaman yang tersebar di bagian Afrika Utara, Timur Tengah, Turki dan bisa ditanam di tempat yang cenderung berlumpur, tanah liat atau bahkan berpasir. Tanaman ini dapat tumbuh optimal di wilayah yang memiliki banyak sinar matahari. Di Indonesia, tanaman ini banyak ditemukan di Jawa Tengah, tepatnya di Tawangmangu (Patil, 2014).

Biji Fenugreek telah digunakan sebagai antimikroba, antikanker, antiperadangan, antioksidan dan antidiabetes. Mekanisme yang ditempuh dalam antiabetes adalah dengan menstimulasi sel  $\beta$  pankreas, inhibisi sel  $\alpha$  pankreas, menghambat glukosa-6fosfat dan enzim fruktosa difosfatase serta sintesis enzim glukokinase. Hal ini karena pada biji telah diketahui mengandung aktivitas antioksidan atau penangkal radikal bebas yang sangat efektif (Akbari *et al.*, 2019).

Tanaman ini mengandung alkaloid seperti gentianine, trigonelline, dan carpaine. Selain itu juga mengandung sapononin jenis diosgenin, Flavonoid, dan juga asam amino seperti arginin dan 4-hydroxyisoleusin. Biji tanaman ini juga mengandung senyawa golongan glikosida seperti yamogenin, diosgenin, trigraecum, trigofenosida, graekunin, trigokumarin, neogitogenin, yukkagenin, sarsapogenin, tigogenin dan smilagenin. Sedangkan kandungan polifenol diantaranya adalah quercetin, viteksin, kumarin, asam kafein, visenin dan asam klorogenik. Biji Fenugreek memiliki kadar protein sebanyak 26% yang mampu mengurangi lipid dalam darah. Selain itu, kandungan Trigonelin dalam biji Fenugreek dapat berperan sebagai agen yang mampu menurunkan kadar lemak dan glukosa dalam darah (Patil, 2014).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Kaviarasan dan Anuradha (2007) menunjukkan bahwa ekstrak polifenol dari biji fenugreek juga mampu menyembuhkan cedera pada hepar dan mengurangi kerusakan yang terjadi akibat induksi alkohol pada hepar dan detoksifikasi enzim dan komponen transpor elektron sitokrom-c reduktase. Selain itu juga mampu untuk meningkatkan viabilitas sel hati dan mengurangi inti apoptosis pada hepar tikus yang diamati. Temuan ini menunjukkan bahwa ekstrak polifenol dari biji fenugreek dapat berperan sebagai agen hepatoprotektor yang sebanding dengan agen hepatoprotektor yang sudah diketahui seperti silymarin.

Selain itu, pada penelitian oleh Tewari *et al.* (2020) memberikan bukti yang jelas bahwa suplemen dari fenugreek diketahui mampu memodulasi sistem pertahanan antioksidan di hati tikus yang menua. Suplemen makanan dari biji fenugreek secara signifikan mampu meningkatkan aktivitas SOD pada hati tikus tua. Selain itu, ditemukan juga tingkat kandungan fenolik yang tinggi dan sifat yang mengikat radikal DPPH, sehingga diketahui bahwa suplemen makanan biji fenugreek mampu melawan stres oksidatif pada hati tikus.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap). Penelitian ini menggunakan 6 perlakuan dengan 6 kali ulangan yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) yang dikombinasikan dengan fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) terhadap kadar GOT, GPT, histologi pankreas dan histologi hepar pada mencit yang diinduksi dengan Streptozotocin.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari hingga Agustus 2021 di Laboratorium Fisiologi Hewan dan Kandang Hewan Coba, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.3 Alat dan Bahan**

##### **3.3.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah kandang hewan coba berupa bak plastik dengan lebar 27,5 cm, panjang 36 cm, dan tinggi 22,5 cm dengan total volume adalah 22.275 cm<sup>3</sup>) (Marbawati & Ikawati, 2008), penutup kandang yang terbuat dari kawat, tempat makan plastik, botol minum, timbangan analitik, spuit 1 cc, *gavage*, alat bedah, *Erlenmeyer*, gelas ukur, *beaker glass*, spektrofotometer uv-vis, glukotest *EasyTouch*, glukose strip *EasyTouch*, gunting bedah, *micropipette*, dan tube 1 ml.

##### **3.3.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) berumur 12 minggu dengan jenis kelamin jantan dan berat badan 30-40 gram, streptozotocin Santa cruz, pakan BR-1 dan BR-2, air minum, buffer sitrat 1 M pH 4,5, larutan PBS 10 mM, formalin, ekstrak *Trigonella foenum-graecum* L. dan *Nigella sativa* L. yang diperoleh dari Materia Medica Batu, metformin, alkohol, Na-CMC, HCl, aquades, larutan xanthin, larutan sitokrom c, xanthin oksidase, TCA dan Na-Thio 1%.

### 3.4 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini, yaitu:

1. Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan adalah kombinasi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dengan dosis 200 mg/kg BB selama 35 hari dan fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) dengan dosis 50 mg/kg BB selama 35 hari.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar GOT, GPT, histologi pankreas dan histologi hepar mencit (*Mus musculus*).

3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu:

- a. Hewan eksperimental berupa mencit (*Mus musculus*) berusia 12 minggu dengan jenis kelamin jantan dan rata-rata berat badan adalah 30-40 g.
- b. Hewan coba diaklimatisasi selama 2 minggu dan diberi makan BR-1 serta air *ad-libitum*.

### 3.5 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dan sampel pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. No (Normal) = Tanpa induksi streptozotocin dan tanpa pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dan fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) selama 35 hari.
2. K- (Kontrol Negatif) = Diinjeksi streptozotocin tetapi tidak diberi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dan fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) selama 35 hari.
3. K+ (Kontrol Positif) = Diinjeksi streptozotocin dan diberi obat metformin dengan dosis 65 mg/kg BB selama 35 hari
4. P1 (Perlakuan 1) = Diinjeksi streptozotocin dan diberi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dengan dosis 200 mg/kg BB selama 35 hari.
5. P2 (Perlakuan 2) = Diinjeksi streptozotocin dan diberi kombinasi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dengan dosis 100 mg/kg BB dan fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) dengan dosis 50 mg/kg BB selama 35 hari.

6. P3 (Perlakuan 3) = Diinjeksi streptozotocin dan diberi ekstrak fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) dengan dosis 100 mg/kg BB selama 35 hari.

### **3.6 Prosedur Penelitian**

#### **3.6.1 Persiapan**

##### **3.6.1.1 Pembuatan Larutan Streptozotocin**

Dilarutkan Streptozotocin dengan buffer sitrat 0,1 M pH 4,5. Pada dosis 45 mg/kg BB, dilarutkan 27 mg streptozotocin dalam 9 ml buffer sitrat. Pada dosis 60 mg/kg BB, 36 mg streptozotocin dilarutkan dalam 9 ml buffer sitrat. Larutan tersebut dihomogenkan menggunakan vortex hingga streptozotocin larut dengan sempurna. Tanda larutan sudah larut dengan sempurna adalah sudah tidak ditemukannya butiran streptozotocin yang melayang atau mengendap di dalam larutan tersebut.

##### **3.6.1.2 Pembuatan Sediaan Uji**

Proses ekstraksi jintan hitam dan fenugreek dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut ethanol 70%. Ditimbang biji jintan sebanyak 500 g, kemudian dihaluskan dengan menggunakan 1,5 L ethanol 70% selama 1 x 72 jam. Selanjutnya, hasil ekstrak dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu 40 °C selama 1 jam hingga ethanol menguap sepenuhnya. Hasil dari pemekatan ini diperoleh volume ekstrak jintan hitam sebanyak 90 ml.

Dihaluskan biji fenugreek sebanyak 500 g, kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk. Serbuk direndam menggunakan 1,5 L ethanol 70% selama 1 x 72 jam. Hasil ekstrak dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40 °C selama 1 jam hingga ethanol menguap sempurna. Hasil ekstrak yang diperoleh adalah 100 ml.

##### **3.6.1.3 Pemeliharaan Mencit**

Hewan coba mencit ditempatkan di kandang bak plastik dengan ukuran lebar 27,5 cm, panjang 36 cm dan tinggi 22,5 cm dengan volume 22.275 cm<sup>3</sup> (Marbawati & Ikawati, 2008). Tiap kandang berisi 1 ekor mencit, diberi alas sekam dan diganti setiap 2 hari sekali. Sebelum dilakukan perlakuan, mencit

diaklimatisasi terlebih dahulu selama 2 minggu. Pakan yang diberikan selama aklimatisasi adalah BR-1 dan diberikan minum secara *ad-libitum*. Setelah proses aklimatisasi selesai, mencit diberi pakan BR-2. Adapun Suhu ruangan yang digunakan adalah 22-25 °C dengan siklus gelap terang 12/12.

### **3.6.2 Pelaksanaan**

#### **3.6.2.1 Pembuatan Hewan Eksperimental Diabetes Melitus Tipe 2**

Mencit (kecuali kelompok normal) diinduksi dengan streptozotocin secara intraperitoneal dengan dosis 45 mg/kg BB selama 3 hari dan jika BB mencit sudah mencapai 60 g induksi dilakukan selama 2 hari dengan selang 1 hari. Induksi intraperitoneal dilakukan dengan cara Mencit diarahkan menghadap ke atas hingga bagian abdomennya dapat terlihat. Bagian abdomen mencit diusap menggunakan ethanol 70%, kemudian Jarum suntik dimasukkan pada bagian abdomen. Apabila jarum suntik terasa berat berarti sudah masuk pada daerah intraperitoneal dan streptozotocin dimasukkan secara perlahan.

Pengecekan kadar glukosa darah pada mencit dilakukan pada hari ke 7, 14 dan 21 pasca induksi. Kadar glukosa darah mencit diukur menggunakan glukometer. Pengecekan kadar glukosa darah dilakukan dengan cara menggantung ujung ekor mencit. Ekor mencit ditekan dari pangkal sampai ujung untuk mengeluarkan darahnya. Darah yang keluar dari ekor mencit diteteskan pada test strip, kemudian ditunggu sampai sekitar 10 detik sampai test strip tersebut mendeteksi kadar gula. Kadar glukosa dalam darah tersebut diukur dalam satuan mg/dL. Mencit dengan kadar glukosa dalam darah >200 mg/dl maka dinyatakan sudah mengalami diabetes melitus tipe 2.

#### **3.6.2.2 Pembuatan Larutan Na-CMC 0,5%**

Dilarutkan Serbuk Na-CMC sebanyak 500 g dilarutkan dalam aquades panas sebanyak 10 ml, lalu diaduk hingga homogen. Selanjutnya ditambah aquades sampai mencapai volume 100 ml.

#### **3.6.2.3 Terapi Ekstrak *Nigella sativa* L. dan *Trigonella foenum-graecum* L.**

Ekstrak *Nigella sativa* L. yang digunakan untuk kombinasi adalah dosis 200 mg/kg BB. Sedangkan untuk *Trigonella foenum-graecum* L. dosis yang digunakan adalah 100 mg/kg BB. Kombinasi keduanya menggunakan dosis

*Nigella sativa* L. 100 mg/kg BB dan *Trigonella foenum-graecum* L. 50 mg/kg BB. Pemberian ekstrak yang digunakan dilakukan dengan *gavage* selama 35 hari setelah mencit menderita diabetes.

### **3.6.3 Pengambilan Data**

#### **3.6.3.1 Pembuatan Lisat Hepar**

Mencit diterminasi dan dibedah setelah dilakukan pemberian ekstrak *Nigella sativa* L. dan *Trigonella foenum-graecum* L. selama 35 hari. Selanjutnya diambil organ hepar dan dipotong kecil-kecil. Kemudian 0,5 g hepar dihancurkan dengan mortar steril yang ditempatkan diatas blok es. Perbandingan PBS: berat hepar adalah 9:1, selanjutnya dimasukkan ke tabung Eppendorf 15 ml dan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm dengan waktu sekitar 15 menit.

#### **3.6.3.2 Pengukuran Kadar SGPT dan SGOT**

##### **3.6.3.2.1 Metode Kinetik Enzimatik**

Metode yang digunakan untuk pemeriksaan SGPT dan SGOT adalah metode kinetik enzimatik sesuai IFCC. Metode ini dilakukan dengan menggunakan alat semi otomatis merek photometer 4010. Pemeriksaan ini berdasarkan reaksi kinetik enzimatik yang umumnya dipengaruhi oleh pH, suhu, waktu, dan jenis substrat (Sardini, 2007). Prinsip metode ini adalah *Alanine aminotransferase* (ALT) yaitu dengan cara mengkatalis *transaminase* dari *L-Alanine* dan *2-oxoglutarate* membentuk *L-Glutamate* dan *pyruvate* yang direduksi menjadi *D-Lactate* oleh enzim *lactic dehydrogenase* (LDH) dan *niconamide adenine dinucleotide* (NADH) teroksidase menjadi NAD. Banyaknya NADH yang teroksidase berbanding langsung dengan aktivitas ALT. Hasil tersebut diukur dengan photometer 4010 pada panjang gelombang 340 nm, temperatur 37<sup>0</sup>C dengan standar 1745 U/L pada blanko udara dan reagen Diasys. 1000 µl reagen dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 100 µl serum dan dihomogenkan. Reagen diinkubasi selama 1 menit pada suhu 37<sup>0</sup>C, kemudian dibaca dengan alat photometer 4010 pada panjang gelombang 340 nm.

### 3.6.3.2.2 Metode Automatik

Pemeriksaan SGPT dan SGOT dilakukan menggunakan alat otomatis analyser kimia klinik (Selecta Pro Series). Prinsip kerja alat ini adalah pemipetan serum dan reagen secara otomatis dan reaksinya berlangsung dalam rotor. secara otomatis alat akan membaca absorbansi dari larutan menggunakan lampu halogen sebagai sumber cahaya dan dibaca oleh photodiode. Nilai absorbansi tersebut dikonversikan menggunakan rumus yang sudah ditentukan untuk setiap parameternya dengan menggunakan faktor. Hasil akan ditampilkan pada layar monitor (Manual book selecta pro series, 2011).

### 3.7.3.3 Metode Pembuatan Preparat

Tahap pembuatan preparat diantaranya adalah sebagai berikut :

#### 1. Fiksasi

Tahap fiksasi menggunakan neutral buffer formalin (NBF) 10%. NBF berfungsi untuk mempertahankan bentuk dan integritas kimiawi sel sesuai pada saat hidup, mencegah kerusakan bentuk, struktur dan hubungan antar sel akibat dari pembusukan dan perpindahan dari satu tempat ke tempat lain serta memperkeras jaringan agar terhindar dari traumatik akibat handling.

#### 2. Trimming

Trimming merupakan pengirisan jaringan menjadi lebih kecil yang bertujuan agar bisa dimasukkan dalam *tissue cassette* untuk proses dehidrasi. Dalam melakukan trimming sangat penting diperhatikan bagian jaringan yang mana akan dipilih, sehingga menunjang akurasi diagnosa .

#### 3. Dehidrasi

Proses dehidrasi meliputi : Perendaman dalam alkohol 70% selama 2 jam, kemudian dilakukan perendaman dalam alkohol 80% selama 2 jam. Setelah itu dilakukan perendaman kembali dalam Alkohol 90% selama 2 jam dan dalam Alkohol 96% selama 2 jam. Dilakukan perendaman kembali pada Alkohol absolut I selama 2 jam Alkohol absolut II selama 2 jam. Setelah itu dalam Toluena I selama 2 jam dan Toluena II selama 2 jam. Pada Xylol I dilakukan perendaman selama 2 jam dan Xylol

II selama 2 jam serta pada Parafin cair I dilakukan perendaman selama 2 jam dan Parafin cair II selama 2 jam.

#### 4. Embedding dan Blocking

Penamaan (Embedding) merupakan proses untuk mengeluarkan cairan pembening dari jaringan dan digantikan dengan parafin. Jaringan ini harus terbebas dari cairan pembening karena nantinya akan mengkristal dan sewaktu dipotong jaringan akan mudah robek. Berdasarkan metode prosesnya yaitu jaringan akan dibenamkan di larutan parafin selama 3x dan dalam jangka waktu tertentu sambil dipanaskan agar parafinnya tidak membeku.

Pembuatan (Blocking) merupakan proses pengisian parafin padat yang dicairkan agar dapat dipotong menggunakan mikrotom. Proses ini menggunakan parafin sebagai media pengisian jaringannya agar memadat dan mudah dipotong. Prosesnya yaitu dengan menyiapkan tempat blocking, dan menuangkan parafin, dilanjutkan dengan memasukan organ kedalam parafin yang sudah disediakan. Selanjutnya setelah blok parafin kering dan sudah beku dapat dikeluarkan dari tempat blocking dan dapat dilanjutkan ke proses selanjutnya

#### 5. Cutting

Proses cutting menggunakan mikrotom dengan ketebalan pemotongan : 4-6  $\mu\text{m}$  darah yang keluar dari ekor mencit ditetaskan pada test strip, kemudian ditunggu sampai sekitar 10 detik sampai test strip tersebut mendeteksi kadar gula. Jika sudah mengembang, jaringan dilaetakkan pada objek glas, kemudian dikeringkan dalam suhu kamar, dan di masukkan dalam inkubator sebelum diwarnai.

#### 6. Staining

Pada proses staining menggunakan pewarna Hematoxylin-Eosin (HE) preparat direndam dalam xylol I , II dan III selama masing-masing 5 menit, kemudian dehidrasi dengan etanol I dan II masing-masing 5 menit • preparat di cuci dengan aquades 1 menit, kemudian Rendam dalam larutan Hematoksilin selama 15 menit. selanjutnya preparat dibilas dengan air mengalir dan dicuci dengan Lithium karbonat selama 15-30 detik, kemudian dibilas dengan aquades 1 menit • Preparat dicelupkan dalam acid alkohol 4 celupan, kemudian dibilas dengan akuades 1 menit & 15 menit

- preparat diwarnai dengan Eosin selama 4 menit, kemudian Sediaan dimasukkan ke dalam alkohol 70%, 80%, dan 96% masing-masing selama 3 menit.
- preparat direndam ke dalam etanol III dan IV masing-masing selama 3 menit, kemudian direndam dalam xylol IV dan V masing-masing 3 menit. preparat dikeringkan kemudian ditetesi dengan perekat permount dan ditutup dengan gelas penutup.

#### 7. Mounting – Cover Slip - Examined

Proses mounting merupakan proses terakhir sebelum preparat diamati secara makroskopik dan mikroskopik. Pada proses ini entelan digunakan sebagai perekat diakhir pengerjaan dan selanjutnya sediaan kutu ditutup dengan deck glass. Proses mounting yaitu menempelkan jaringan pada kaca penutup dengan menggunakan bahan perekat (adhesive) berupa mounting media. Mounting media adalah zat yang menghubungkan antara sediaan dengan kaca penutup. Zat tersebut meliputi gliserol dan balsam kanada, tetapi untuk preparat permanen digunakan balsam kanada.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Pengaruh ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) yang dikombinasikan dengan fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) terhadap kadar SGOT dan SGPT pada mencit

Data hasil uji normalitas dan homogenitas dari pengaruh pemberian ekstrak *Nigella sativa* dan ekstrak fenugreek terhadap kadar *Serum Glutamat Piruvat Transaminase* (SGPT) dan *Serum Glutamat Piruvat Transaminase* (SGOT) *Mus musculus* yang di injeksi STZ didapatkan data yang homogen ( $p>0,05$ ) (Lampiran?), data yang telah memenuhi uji normalitas dan homogenitas, maka dilanjutkan dengan

uji *One-Way ANOVA* yang menunjukkan nilai signifikan  $<0,01$  ( $0,00 <0,01$ ) (Lampiran) maka hipotesa nol ( $H_0$ ) ditolak dan Hipotesa satu ( $H_1$ ) diterima. Hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh terhadap kadar SGPT dan SGOT, kemudian data diuji lanjut menggunakan uji Duncan dengan tujuan mengetahui perbedaan antar perlakuan pemberian ekstrak *Nigella sativa* dan ekstrak fenugreek pada mencit yang di induksi STZ selama 35 hari dapat dilihat pada **Tabel 4.1** berikut ini:

**Tabel 4.1 Kadar SGPT dan SGOT  $\pm$  SD Mencit**

Kadar SGPT dan SGOT $\pm$ SD		
Kelompok Perlakuan	SGPT	SGOT
Normal (A)	4,74 $\pm$ 0,615 <sub>a</sub>	3,788 $\pm$ 0,258 <sub>a</sub>
P1 (B)	27,278 $\pm$ 3,288 <sub>c</sub>	13,496 $\pm$ 2,711 <sub>c</sub>
P3 (C)	8,318 $\pm$ 2,011 <sub>a</sub>	7,306 $\pm$ 0,943 <sub>b</sub>
P2 (D)	7,882 $\pm$ 4,321 <sub>a</sub>	7,056 $\pm$ 2,081 <sub>b</sub>
K- (E)	4,628 $\pm$ 0,694 <sub>a</sub>	3,396 $\pm$ 1,072 <sub>a</sub>
K+ (F)	12,974 $\pm$ 4,177 <sub>b</sub>	7,318 $\pm$ 0,922 <sub>b</sub>

Keterangan: Huruf yang sama pada variabel perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak nyata berdasarkan uji Duncan 5%. (A) kelompok Normal, P1 (B) Perlakuan Injeksi streptozotocin dan ekstrak *Nigella sativa* dosis 200 mg/kg BB, P3 (C) Perlakuan injeksi streptozotocin dan ekstrak fenugreek dosis 100 mg/kg BB, P2 (D) perlakuan injeksi streptozotocin dan ekstrak jintan hitam dosis 100 mg/kg BB dan fenugreek dosis 50 mg/kg BB, (K-) perlakuan injeksi streptozotocin, (K+) Perlakuan streptozotocin dan obat metformin dosis 65 mg/kg BB.

Berdasarkan hasil uji Duncan (**Lampiran berapa**) didapatkan hasil kadar SGPT hepar mencit pada kelompok P1 perlakuan injeksi streptozotocin dan ekstrak jintan hitam dosis 65 mg/kg BB memiliki perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok normal yang tanpa diberi perlakuan. Perlakuan pemberian ekstrak jintan hitam

dan fenugreek pada kadar SGOT mencit yang diinduksi streptozotocin, pada P1 juga memiliki perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan normal. Begitu juga dengan kelompok P2 dan P3 pada kadar SGPT memiliki perbedaan yang signifikan jika dibandingkan kelompok normal, kemudian pada K- dengan Normal memiliki pengaruh yang sama pada kadar SGPT dan pada K+ memiliki perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan normal. Sedangkan pada kadar SGOT pada P3 dan P2 memiliki perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok normal, perlakuan K+ memiliki pengaruh yang sama jika dibandingkan dengan normal.

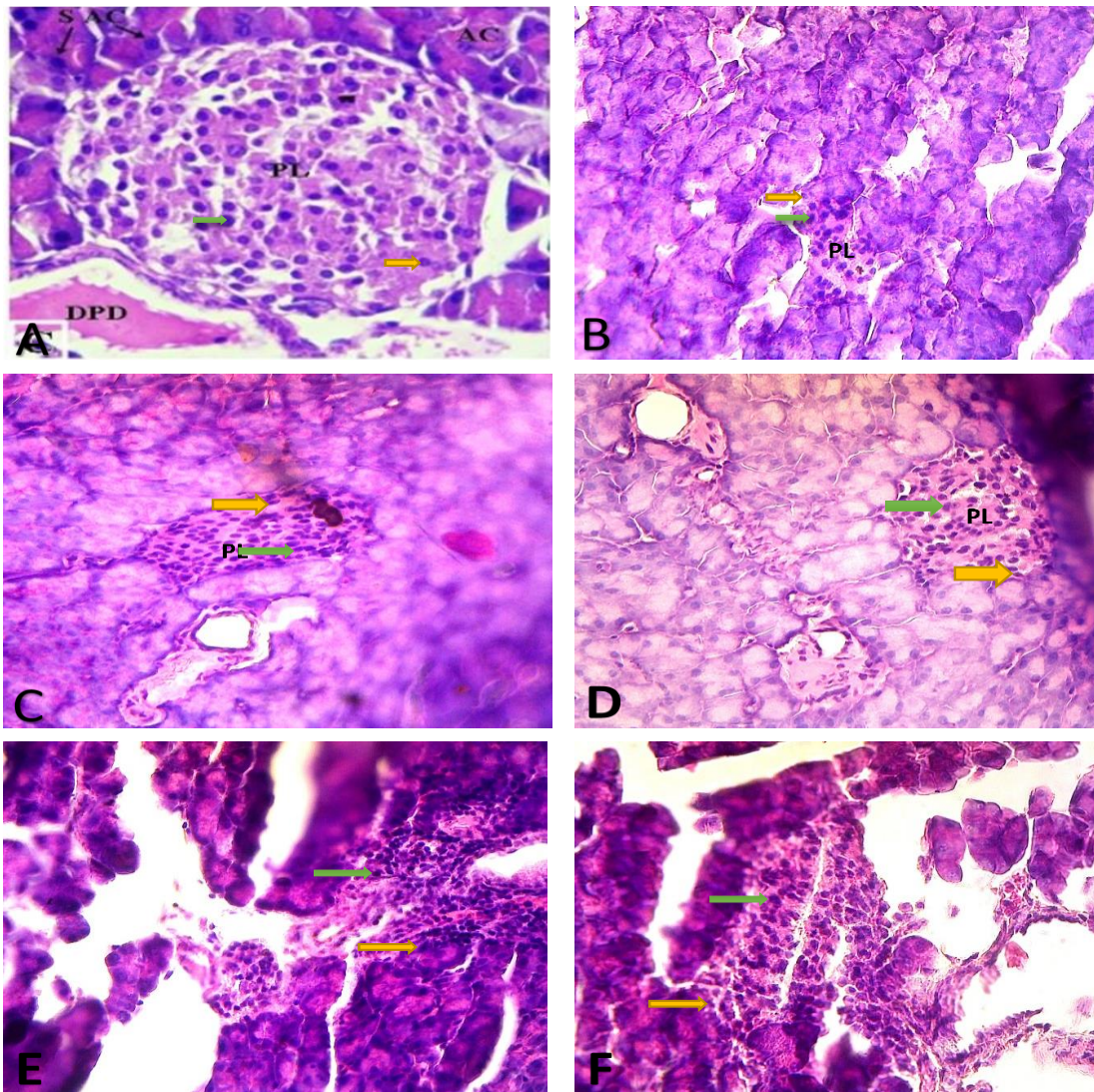
Peningkatan kadar SGPT yang terjadi pada P1 pemberian ekstrak *Nigella sativa* dosis 200 mg/kg BB dan induksi streptozotocin selama 35 hari sebesar 8,234 jika dibandingkan dengan perlakuan normal, sedangkan pada kadar SGOT P1 mengalami peningkatan sebesar 9,708, pada P2 perlakuan pemberian ekstrak *Nigella sativa* dosis 100 mg/g kg BB dan ekstrak fenugreek dosis 50 mg/g kg BB selama 35 hari kadar SGPT meningkat sebesar 3,142 dan SGOT sebesar 3,268, pada P3 perlakuan pemberian ekstrak fenugreek dosis 100 mg/kg BB selama 35 hari kadar SGPT meningkat sebesar 3,578 dan kadar SGOT sebesar 3,518, pada K- perlakuan pemberian ekstrak *Nigella sativa* dan ekstrak fenugreek selama 35 hari kadar SGPT mengalami penurunan sebesar 0,112 berbeda dengan kadar SGOT mengalami peningkatan sebesar 0,84, pada K+ perlakuan pemberian obat metformin dosis 65 mg/kg BB selama 35 hari kadar SGPT meningkat sebesar 8,234 dan kadar SGOT meningkat sebesar 3,53, hasil tersebut jika dibandingkan dengan kelompok normal.

## **4.2 Pengaruh ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) yang dikombinasikan dengan fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) terhadap histologi pankreas dan histologi hepar pada mencit**

### **4.2.1 Histologi Pankreas**

Pemberian ekstrak *Nigella sativa* dan ekstrak fenugreek terhadap *Mus musculus* yang diinjeksi STZ selama 35 hari dapat memberikan pengaruh terhadap gambaran histopatologi pankreas. Perbandingan histopatologi pankreas *Mus musculus* pada kelompok A, B, C, D, E dan F dapat diamati secara mikroskopis melalui pengamatan gambaran histopatologi pankreas dengan pewarnaan *Hematoxylen-Eosin* (HE). Gambaran

histopatologi hepar pada setiap kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan, hal tersebut dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1. (A) Kelompok Normal (B) Injeksi STZ dan ekstrak *Nigella sativa* dosis 200 mg/kg BB, (C) Injeksi STZ dan ekstrak fenugreek dosis 100 mg/kg BB, (D) Injeksi STZ dan ekstrak *Nigella sativa* 100 mg/kg BB dan ekstrak fenugreek 50 mg/kg BB, (E) Injeksi STZ dan (F) Injeksi STZ dan obat metformin dosis 65 mg/kg BB.

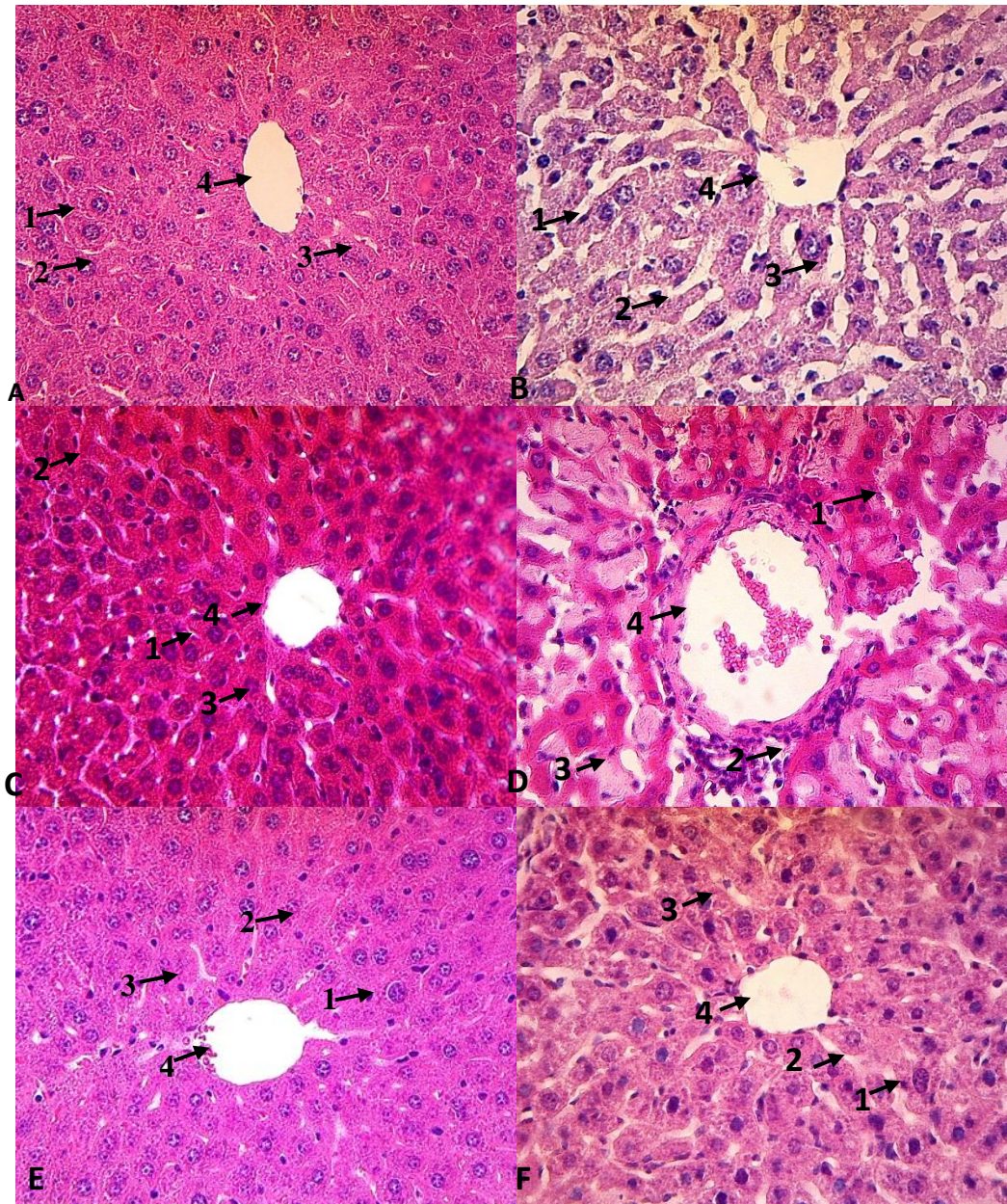
Keterangan: (PL) Pulau Langerhans, (→) sel Beta ( $\beta$ ), dan (→) sel Alfa ( $\alpha$ ).

Berdasarkan hasil pengamatan pada histopatologi jaringan pankreas *Mus musculus* kelompok normal dengan perbesaran 400x terlihat bagian-bagian sitoplasma dari sel-sel di pulau Langerhans. Terlihat batasan yang jelas antara sel-sel asinar dan pulau Langerhans, terlihat sel-sel tidak mengalami edema (pembengkakan), hal ini menunjukkan pulau langerhans tidak mengalami kerusakan. Pada kelompok B yang diinjeksi STZ dan diberi ekstrak *Nigella sativa* dosis 200 mg/kg

BB terlihat diameter pulau Langerhans mengecil. Hal tersebut terjadi karena rusaknya sel-sel yang di pulau Langerhans. Pada kelompok C yang di injeksi STZ dan ekstrak fenugreek dosis 100 mg/kg BB tampak diameter pulau Langerhans lebih kecil jika dibandingkan dengan kelompok D, menunjukkan adanya piknosis maupun kariolisis terhadap inti sel. Kelompok perlakuan D yang diberi STZ dan ekstrak *Nigella sativa* dosis 100 mg/kg BB dan ekstrak fenugreek dosis 50 mg/kg BB nampak ada perbaikan sel jika dibandingkan dengan kelompok C, serta adanya degenerasi pulau Langerhans yang ditandai dengan adanya ruang-ruang kosong dibagian tengah pulau Langerhans. Kelompok E yang diberi STZ tampak pulau Langerhans mengalami regenerasi sel dengan adanya pertambahan kembali ukuran pulau Langerhans, batas dari pulau Langerhans tidak terlihat jelas, begitu juga keberadaan sel  $\alpha$  dan  $\beta$  tidak jelas. Pada kelompok F yang diberi STZ dan obat metformin tampak adanya degenerasi pulau Langerhans yang ditandai dengan ruang-ruang kosong dibagian tengah pulau laherhans, keberadaan sel  $\alpha$  dan  $\beta$  tidak jelas tapi masih bisa dibedakan.

#### **4.2.2 Histologi Hepar**

Pemberian ekstrak *Nigella sativa* dan ekstrak fenugreek terhadap *Mus musculus* yang diinjeksi STZ selama 35 hari dapat memberikan pengaruh terhadap gambaran histopatologi hepar. Perbandingan histopatologi hepar *Mus musculus* pada kelompok A, B, C, D, dan F dapat diamati secara mikroskopis melalui pengamatan gambaran histopatologi hepar yang diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 400x dan pewarnaan *Hematoxylen-Eosin* (HE). Gambaran histopatologi hepar pada setiap kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan, hal tersebut dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.2. (A) Kelompok Normal (B) Injeksi STZ dan ekstrak *Nigella sativa* dosis 200 mg/kg BB, (C) Injeksi STZ dan ekstrak fenugreek dosis 100 mg/kg BB, (D) Injeksi STZ dan ekstrak *Nigella sativa* 100 mg/kg BB dan ekstrak fenugreek 50 mg/kg BB, (E) Injeksi STZ dan (F) Injeksi STZ dan obat metformin dosis 65 mg/kg BB.

Keterangan: (1) Hepatosit, (2) Degenerasi Lemak, (3) Sinusoid, dan (4) Vena Sentralis.

Gambaran histopatologi hepar pada kelompok normal (Gambar 4.1 A) karena inti sel hepatosit berada ditengah sel, memiliki batasan yang jelas antar sel hepatosit. Sinusoid tersusun

secara radial dari vena sentralis. Gambaran histopatologi hepar pada kelompok P1 yang diinjeksi STZ dan diberi ekstrak *Nigella sativa* dosis 200 mg/kg BB selama 35 hari menunjukkan adanya degenerasi lemak pada sel hepatosit sehingga inti sel hepatosit terdesak dan struktur sinusoid tidak teratur. Pada kelompok P2 yang diberi STZ dan ekstrak fenugreek dosis 100 mg/kg BB selama 35 hari adanya pengurangan degenerasi lemak pada sel hepatosit jika dibandingkan dengan kelompok B, inti sel hepatosit berada diantara sel hepatosit dan sinusoid, struktur sinusoid terlihat tidak teratur. Gambaran histopatologik perlakuan D yang diberi STZ dan diberi kombinasi ekstrak *Nigella sativa* dosis 100 mg/kg BB dan ekstrak fenugreek dosis 50 mg/kg BB selama 35 hari terlihat adanya degenerasi lemak lebih banyak jika dibandingkan dengan kelompok B, struktur sinusoid lebih tidak teratur jika dibandingkan dengan kelompok P1, inti sel berada ditengah sel hepatosit. Kelompok K- yang hanya diberi STZ selama 35 hari terlihat akumulasi lemak yang sangat sedikit, inti sel hepatosit berada ditengah, sinusoid terlihat teratur dibandingkan dengan kelompok C, gambaran histopatologi kelompok K+ yang diberi STZ dan diberi obat metformin dosis 65 mg/kg selama 35 hari terlihat inti sel berada ditengah sel hepatosit, sinusoid lebih teratur jika dibandingkan dengan kelompok P2 dan akumulasi lemak lebih sedikit jika dibandingkan dengan kelompok P3.

#### **4.3 Pengaruh ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) yang dikombinasikan dengan fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) terhadap kadar SGOT dan SGPT pada mencit**

Pada penelitian ini digunakan mencit berumur 12 minggu dan rentan berat badan 30-40 g sebanyak 30 ekor. Berdasarkan hasil uji normalitas data bahwa kadar enzim SGPT dan enzim SGOT setelah diinduksi streptozotocin (STZ) berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) dan memiliki varian data yang homogen ( $p > 0,05$ ). Hasil uji *one-way anova* menunjukkan adanya pengaruh ( $p < 0,05$ ) pemberian ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) yang dikombinasikan dengan fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) pada kadar enzim SGPT dan enzim SGOT mencit. Setelah dilakukan uji *one-way anova* dilakukan uji duncan untuk mengetahui beda nyata data setiap kelompok perlakuan. Pada uji duncan hasil data enzim SGPT diketahui kelompok P3 berbeda nyata dengan kelompok P1, P2, normal, dan kontrol negatif, sedangkan enzim SGOT diketahui kelompok P1, P2, dan P3 berbeda nyata dengan kelompok normal dan kelompok kontrol negatif, sedangkan kelompok normal dan kelompok kontrol negatif tidak berbeda nyata (Tabel 4.1). Pada hasil penelitian diketahui kadar enzim SGPT dan enzim SGOT pada perlakuan kelompok kontrol

negatif lebih rendah daripada kelompok normal dan kelompok kontrol positif. Hal ini dimungkinkan mencit dapat bertahan dalam pemberian jangka panjang STZ, sehingga kadar gula kembali normal. Terbukti terlihat adanya kerusakan pada organ pankreas, khususnya sel beta dan juga organ hepar mencit, tetapi mulai adanya perbaikan.

Enzim SGPT merupakan enzim yang dapat digunakan sebagai indikator adanya kerusakan membran sel suatu jaringan, sedangkan enzim SGOT merupakan enzim yang dapat digunakan sebagai indikator adanya kerusakan hepar karena enzim tersebut terdapat pada mitokondria hepar sekitar 80% (Tang et al., 2006; Qodriyatiet al. 2016). Kadar enzim SGOT dan SGPT akan meningkat apabila terjadi pelepasan enzim secara intra-seluler ke dalam darah yang disebabkan oleh nekrosis pada sel-sel hepar atau karena adanya kerusakan yang akut pada hepar (Wibowo *et al.*, 2007). Kadar normal enzim SGPT pada mencit adalah 2,1-23,8 U/l, sedangkan kadar normal enzim SGOT pada mencit adalah 23,2-48,4 U/l (Smith, J. B., & Mangkoewidjojo, S., 1988; Arfeliana, 2010), sehingga hasil identifikasi enzim SGPT dan enzim SGOT pada mencit semua kelompok penelitian berada dalam kategori kadar normal. Hal ini dimungkinkan peran STZ yang diinjeksikan selama 35 hari berpengaruh pada kadar gula mencit, tetapi karena jangka panjang pemberian, mencit dapat bertahan dan kadar gulanya kembali normal. Menurut Saputra, N. T., et al. (2018) setelah diadaptasi lebih lama dengan STZ kadar glukosa darah hewan coba kembali normal. Pada sebuah penelitian diketahui bahwa efek injeksi STZ pada hewan coba memberikan 3 macam tingkatan diabetes, yaitu rendah, sedang, dan tinggi (Lenzen, S., 2008). Pada penelitian Saputra, N. T., et al. (2018) injeksi STZ pada hewan coba menyebabkan 54,8% mengalami diabetes dan 45,2% dalam kondisi normal.

#### **4.4 Pengaruh ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) yang dikombinasikan dengan fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) terhadap histologi pankreas dan histologi hepar pada mencit**

##### **4.4.1 Histologi pankreas**

Berdasarkan hasil pengamatan pada histopatologi jaringan pankreas mencit (*Mus musculus*) dengan metode pewarnaan *Hematoxylen-Eosin* (HE), terlihat pulau langerhans terdapat pada organ pankreas (Gambar 4.1 A), berbentuk seperti pulau dan banyak dilalui oleh kapiler-kapiler darah, terlihat bentuk yang berbeda dibandingkan dengan sel-sel kelenjar asinar disekelilingnya sehingga pulau langerhans mudah dibedakan. Sedangkan pada hewan penderita DM, akan mengalami

perubahan morfologi pada pulau langerhans, baik dalam jumlah maupun ukurannya, seperti terlihat jelas pada hewan kelompok P1, P2, P3, K-, dan K+ (Guz, Y., 2001; Butler, A. E., 2003).

Berdasarkan pengamatan gambaran histopatologi pankreas mencit (*Mus musculus*) pada perlakuan kelompok normal (Gambar 4.1 A), menggambarkan secara mikroskopik morfologi normal pankreas mencit (*Mus musculus*) yang terdiri dari duktus kelenjar, bagian eksokrin dan bagian endokrin. Pankreas dikategorikan sebagai kelenjar eksokrin sekaligus juga sebagai kelenjar endokrin. Kelenjar eksokrin terdiri atas kumpulan sel-sel serous yang berbentuk piramid dengan sel-sel asinarnya. Kelenjar endokrin adalah organ yang menghasilkan hormon yang tidak memiliki saluran atau pembuluh khusus, sehingga hormon yang dihasilkan didistribusikan ke seluruh tubuh melalui pembuluh darah. Pankreas menghasilkan beberapa hormon yang peredarannya melalui pembuluh darah. Sebagai kelenjar Endokrin, Pankreas menghasilkan hormon-hormon sebagai berikut: Insulin, Glukagon, Somatostatin, dan Polipeptida Pankreas. Hormon-hormon endokrin ini fungsi utamanya mengatur keseimbangan kadar gula dalam tubuh.

Histopatologi pankreas mencit (Gambar 4.1) dengan perbesaran 400x menunjukkan bagian sitoplasma dari sel-sel di pulau langerhans yang mengambil warna bersifat eosinofilik lemah dan lebih muda pada pewarnaan HE, sehingga sangat mudah untuk dibedakan dengan bagian eksokrin sel-sel asinar serta daerah pulau langerhans menunjukkan batas yang jelas. Pulau langerhans terisi penuh oleh sel-sel penghasil hormon yang padat dan kompak serta tidak terdapat sel-sel yang tidak mengalami edema (pembengkakan), hal ini mengindikasikan bahwa pulau langerhans dalam keadaan normal atau tidak terjadi kerusakan.

Gambaran histopatologi pankreas mencit (Gambar 4.1) menunjukkan sel-sel yang terdapat di dalam pulau langerhans yaitu sel alfa ( $\alpha$ ) dan sel beta ( $\beta$ ). Sel beta mensekresi insulin 70% dari sel-sel endokrin pulau langerhans dan terletak ditengah pulau langerhans serta mempunyai inti besar dan bulat. Sel alfa mensekresi glukagon, sel ini merupakan 15% dari sel-sel endokrin pulau langerhans dan terletak sepanjang bagian perifer pulau langerhans serta mempunyai inti yang bentuknya tidak teratur dan granula sekretori yang mengandung glukagon (Kurt, 1994).

Hasil pengamatan pada gambaran histopatologi pankreas mencit kelompok perlakuan K- dan K+ hampir mirip (Gambar 4.1 E dan Gambar 4.1 F). Gambaran preparat kelompok perlakuan K+ dan K- menunjukkan area pulau langerhans yang tidak berbatas jelas, tampak terlihat adanya ruang-ruang kosong yang lebar, bentuk dari pulau langerhans terlihat irregular, terlihat pertautan sel

asinar dengan pulau langerhans lepas, terjadi nekrosis sel beta pankreas, inti sel beta mengalami piknosis (pengerutan inti), dan karioleksis (fragmentasi inti). Kanter, M. et al., (2009) mengatakan bahwa sebagian dari inti sel piknosis yang mempunyai sitoplasma eosinofilik ditandai dengan warna gelap akibat dari terjadinya nekrosis sehingga terjadi pembekuan nekrosis. Hal ini terlihat jelas pada perlakuan kelompok K-. Kerusakan sel-sel beta pankreas dapat disebabkan oleh banyak faktor. Faktor tersebut diantaranya faktor genetik, infeksi oleh kuman, faktor nutrisi, zat diabetogenik dan radikal bebas (stres oksidatif). Senyawa STZ merupakan salah satu agen/zat diabetogenik yang bersifat toksik, terutama terhadap sel beta pankreas dan apabila diberikan kepada hewan coba seperti mencit (*Mus musculus*) dapat menyebabkan hewan coba mencit menjadi diabetes (Yulinta *et al.*, 2013).

Streptozotocin bekerja dengan cara membentuk radikal bebas sangat reaktif yang dapat menimbulkan kerusakan pada membran sel, protein, dan *deoxyribonucleic acid* (DNA), sehingga menyebabkan gangguan produksi insulin oleh sel beta langerhans pankreas (Wilson, 1988). Szkudelski (2001) menyatakan bahwa streptozotocin memasuki sel beta langerhans pankreas melalui *glucose transporter 2* (GLUT 2) dan menyebabkan alkilasi. Hal ini didahului oleh pembatasan pembentukan adenosin trifosfat pada mitokondria akibat pembentukan radikal bebas, peningkatan enzim *xanthine oxidase* dan penghambatan siklus Krebs. Terdapat dua tipe diabetes mellitus akibat induksi streptozotocin (STZ), yaitu diabetes mellitus tipe 1 dan diabetes mellitus tipe 2 (Yaturu, S., 2011).

Pada kelompok P1 yang diberi ekstrak *Nigella sativa* dosis 200 mg/kg BB terlihat diameter pulau Langerhans mengecil (Gambar 4.1 B). Hal tersebut terjadi karena rusaknya sel-sel yang di pulau Langerhans. Terlihat adanya degenerasi dan nekrosis yang ditandai dengan piknosis pada inti sel. Kejadian nekrosis dan degenerasi pada pulau langerhans ditandai dengan adanya ruang-ruang kosong dibagian tengah pulau langerhans. Menurut Krysanti, A., & Widjanarko, S. B., (2014) ruang-ruang kosong pada pulau langerhans terjadi karena adanya nekrosis sel beta.

Pada kelompok P2 pemberian ekstrak fenugreek dosis 100 mg/kg BB tampak memberikan dampak pada ukuran diameter pulau Langerhans yang lebih baik daripada kelompok P1, tetapi jika dibandingkan dengan kelompok P3 terlihat lebih kecil (Gambar 4.1 C). Pada kelompok P2 tingkat kerusakan gambaran histopatologi yang ditunjukkan rendah. Namun terlihat pada gambaran preparat histologi pankreas kelompok P2 menunjukkan adanya piknosis (pengerutan inti) maupun kariolisis (fragmentasi inti) terhadap inti sel beta. Terlihat juga distribusi sel-sel endokrin di dalam

pulau langerhans tidak tersebar secara homogen dan bentuk pulau langerhans masih memipih dan irreguler. Perbaikan pulau langerhans pada kelompok P2 diikuti dengan terjadinya regenerasi sel pada pulau langerhans yang di tandai dengan adanya sel yang berkoloni dan distribusi sel, meskipun terlihat belum homogen.

Pada kelompok P3 merupakan kelompok yang secara pengamatan histopatologi memiliki gambaran yang paling baik dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain. Pada kelompok ini menunjukkan gambaran histopatologi pankreas yang mendekati normal, menunjukkan pulau langerhans secara mikroskopis mulai membaik yang dapat dilihat pada (Gambar 4.1 D). Gambaran histopatologi pankreas pada kelompok P3 dengan pemberian ekstrak *Nigella sativa* dosis 100 mg/kg BB dan ekstrak fenugreek dosis 50 mg/kg BB menunjukkan kondisi pulau langerhans yang mendekati normal. Masih ditemukan adanya degenerasi pulau Langerhans yang ditandai dengan adanya ruang-ruang kosong dibagian tengah pulau Langerhans.

Pada kelompok perlakuan ini tidak terdapat degenerasi sel, sel-sel endokrin terdistribusi homogen di seluruh pulau langerhans, terjadi penurunan jumlah jaringan ikat dan struktur pulau langerhans terlihat mendekati kelompok normal, hal ini menunjukkan terjadinya regenerasi sel di dalam pulau langerhans akibat dari nekrosis sel. Pengurangan jumlah sel nekrosis sejalan dengan regenerasi sel, dimana sel-sel pankreas kelompok perlakuan memperlihatkan adanya peningkatan jumlah sel beta pankreas yang di tandai dengan adanya sel beta yang berkoloni. Hal ini diduga dipengaruhi oleh meningkatnya jumlah senyawa bioaktif seiring dengan meningkatnya dosis yang diberikan (Krysanti, A., & Widjanarko, S. B., 2014). Peningkatan dosis yang diberikan mengakibatkan peningkatan jumlah senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak, sehingga berpengaruh pada kadar normal nilai SGOT dan SGPT.

#### **4.4.2 Histologi Hepar**

Perbandingan histopatologi hepar mencit pada kelompok perlakuan normal, P1, P2, P3, K-, dan K+ dapat diamati secara mikroskopis melalui pengamatan gambaran histopatologi hepar yang telah diwarnai dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE). Berdasarkan pengamatan gambaran histopatologi hepar mencit pada perlakuan kelompok normal (Gambar 4.1 A), menggambarkan secara mikroskopik morfologi normal hepar mencit yang dominan memiliki batas antar sel yang jelas dan tersusun rapat, bentuk sel polihedral, sitoplasma berwarna merah muda, nukleus berbentuk bulat dan berwarna ungu, inti sel hepatosit berada ditengah sel, memiliki batasan yang jelas antar sel hepatosit, serta sinusoid tersusun secara radier dari vena sentralis. Menurut

Wresdiyati, et al., (2006) kondisi hepar yang normal adalah sinusoid hepar tersusun secara radier dan memancar dari vena sentralis, inti sel hepar tersusun secara radier dan memancar dari vena sentralis, inti sel hepar berada di tengah pada sel hepatosit. Dapat disimpulkan gambaran histologi hepar kelompok perlakuan normal menunjukkan struktur hepar dalam keadaan normal.

Gambaran histopatologi hepar pada kelompok K- (Gambar 4.2 E) yang diberikan STZ selama 35 hari terlihat akumulasi lemak yang sangat sedikit, inti sel hepatosit berada ditengah, sinusoid terlihat teratur dibandingkan dengan kelompok P1, P2, dan P3. Hal ini dimungkinkan karena pengaruh pemberian jangka panjang STZ pada mencit, sehingga mencit dapat bertahan dan menormalkan kadar gula dengan memperbaiki organ yang rusak. Terbukti pada hasil identifikasi SGPT dan SGOT yang bernilai rendah, yaitu pada kategori normal. Sedangkan pada gambaran histopatologi kelompok K+ (Gambaran 4.2 F) yang diberi STZ dan diberi obat metformin dosis 65 mg/kg selama 35 hari terlihat inti sel berada ditengah sel hepatosit, sinusoid lebih teratur jika dibandingkan dengan kelompok P2 dan akumulasi lemak lebih sedikit jika dibandingkan dengan kelompok P3. Terdapat perbedaan warna hati antara kelompok K+ dengan kelompok normal. Hati mencit normal berwarna merah kecoklatan karena mengandung darah yang difasilitasi oleh banyaknya pembuluh darah, yaitu arteri hepatis dan vena porta hepatis. Warna hati merah pucat pada kelompok K+ dimungkinkan karena gangguan aliran darah pada hati yang disebabkan oleh diabetes. Pada kondisi hiperglikemi, terjadi proses peroksidasi lipid dan aktivasi faktor transkripsi faktor nuklear-kB (NF-kB) yang menyebabkan terjadinya kerusakan hati dan fibrogenesis (Rolo, A. P., & Palmeira, C. M., 2006; Tessari, P. et al., 2009; Manna, P. et al., 2010). Fibrosis menyebabkan kapilarisasi sinusoid dan mengganggu pertukaran zat terlarut antara ruang sinusoid dan hepatosit (Deniz, G. Y. et al., 2016).

Gambaran histopatologi hepar pada kelompok P1 yang diinjeksi STZ dan diberi ekstrak *Nigella sativa* dosis 200 mg/kg BB selama 35 hari menunjukkan adanya degenerasi lemak pada sel hepatosit sehingga inti sel hepatosit terdesak dan struktur sinusoid tidak teratur. Pada penelitian yang telah dilakukan Sari (2015) bahwa induksi STZ pada tikus mengakibatkan timbulnya perlemakan hati dan degenerasi lemak. Inti sel terlihat berada ditepi karena terdesak oleh lemak yang memenuhi bagian sitoplasma sel hati. Adanya degenerasi lemak sel hati menyebabkan terjadinya perubahan susunan sel sehingga sel tidak mampu kembali ke kondisi semula yang menyebabkan sinusoid tampak melebar. Hati sangat bengkak, mengandung banyak lemak, terlihat pada preparat gambaran bentuk ruang kosong (Ressang, 1983).

Kerusakan hati dapat bersifat irreversible dan reversible, degenerasi yang terjadi secara terus menerus dapat mengakibatkan kematian sel (nekrosis). Degenerasi dapat terjadi pada sitoplasma. Degenerasi sitoplasma hati kadang-kadang disertai kelainan inti sekunder, atropi dan nekrosis sel, sehingga sel-sel menjadi hilang karenanya. Luas degenerasi lebih penting daripada jenisnya bagi gangguan fungsi hati (Himawan, 1973). Gambaran kerusakan organ hepar ini membuktikan adanya efek pemberian STZ pada mencit, tetapi kadar SGOT dan SGPT pada kadar normal menjadikan indikator adanya sistem perbaikan metabolisme pada mencit.

Dosis ekstrak yang diberikan kepada hewan coba sangat berpengaruh. Tidak selalu dosis ekstrak terbesar yang paling signifikan dalam menyembuhkan suatu patologi, seperti penelitian yang dilakukan oleh Fitria, N. L., et al (2015) dimana ekstrak terbesar tidak menyembuhkan secara signifikan dibandingkan kadar ekstrak yang lebih rendah. Dosis yang tidak sesuai sangat membahayakan bagi organ hati dan ginjal. Pada penelitian Fitria, N. L., et al (2015) dosis tertinggi yang diberikan malah memberikan dampak kerusakan pada hepar, seperti adanya perlemakan pada hepar, sinusoid tidak teratur yang menyerupai gambaran hepar terdampak diabetes, pembendungan darah pada sinusoid dan vena sentralis. *Nigella sativa* dapat berpengaruh dalam penyembuhan diabetes maupun komplikasi pada hati, namun pemilihan dosis, keparahan penyakit, dan lama waktu pemberian berpengaruh dalam keberhasilan terapi (Fitria, N. L., et al., 2015).

Pada kelompok P2 yang diberi STZ dan ekstrak fenugreek dosis 100 mg/kg BB selama 35 hari adanya pengurangan degenerasi lemak pada sel hepatosit jika dibandingkan dengan kelompok P1, inti sel hepatosit berada diantara sel hepatosit dan sinusoid, serta struktur sinusoid terlihat tidak teratur tetapi hampir kembali pada gambaran sinusoid hepar normal. Gambaran hepar kelompok P2 yang terlihat paling mirip dengan kelompok normal, baik dari segi warna dan struktur selnya. Menurut Akbari, dkk (2019) biji Fenugreek telah digunakan sebagai antidiabetes. Mekanisme yang ditempuh dalam antiabetes adalah dengan menstimulasi sel  $\beta$  pankreas, inhibisi sel  $\alpha$  pankreas, menghambat glukosa-6fosfat dan enzim fruktosa difosfatase serta sintesis enzim glukokinase. Hal ini karena pada biji telah diketahui mengandung aktivitas antioksidan atau penangkal radikal bebas yang sangat efektif. Hal ini juga berdampak pada normalnya kadar enzim SGPT dan SGOT mencit yang diberikan perlakuan berikut.

Gambaran histopatologik perlakuan P3 yang diberi STZ dan diberi kombinasi ekstrak *Nigella sativa* dosis 100 mg/kg BB dan ekstrak fenugreek dosis 50 mg/kg BB selama 35 hari terlihat adanya degenerasi lemak lebih banyak jika dibandingkan dengan kelompok P1, struktur

sinusoid lebih tidak teratur jika dibandingkan dengan kelompok P1, inti sel berada ditengah sel hepatosit. Pengamatan degenerasi lemak secara histologi menunjukkan bahwa sel hepatosit yang mengandung banyak lemak terlihat sebagai vesikel kosong yang berbentuk bulat (Kumar, V., *et al*, 2010). Selain itu, gambaran histologi pada hati yang mengalami hiperlipidemia terdapat sel yang mengalami perlemakan (sel steatosis) dan sel nekrosis. Di samping itu, ditemukan sinusoid yang tampak melebar dan degenerasi lemak pada sel yang dilihat dari inti sel yang terdorong ke pinggir serta sel yang mengalami nekrosis (Chalasan, N., *et al*, 2012). Sinusoid hepar berfungsi sebagai tempat mengalirnya darah yang bermuara di vena sentralis, namun sebagian lainnya inaktif dan dijadikan tempat penampungan darah.

Dilatasi sinusoid dapat terjadi karena banyak faktor. Penyebabnya mungkin oleh degenerasi lemak yang parah sehingga dapat terbentuk vakuola lemak secara merata. Vakuola lemak ini menimbulkan banyak ruang kosong, sehingga jarak antar sinusoid menjadi lebih lebar dikarenakan mengalami dilatasi (Ressang, 1984). Penyebab lain yang dapat menyebabkan dilatasi sinusoid adalah adanya bendungan pada vena berupa darah yang disebabkan oleh zat toksik. Secara umum pembendungan dimulai dari vena sentralis yang selanjutnya kebagian tengah lobulus (Wulandari dkk, 2007). Terjadinya dilatasi sinusoid juga membuat diameter vena sentralis melebar atau mengalami dilatasi (Tristiningrum, W. Y., Harini, M., & Widiyani, T., 2006). Dilatasi sinusoid dan vena sentralis menunjukkan adanya inflamasi, degenerasi sel dan nekrosis yang menyebabkan perubahan susunan sel (Tristiningrum, W. Y., Harini, M., & Widiyani, T., 2006).

Adanya kerusakan pada organ hepar ini mungkin dapat disebabkan oleh masih kurang tingginya dosis yang diberikan, atau mungkin juga karena masih kurang lamanya waktu perlakuan (Muthmainah, M., dkk, 2021). Tetapi menurut penelitian Diep, U., Chudow, M., & Sunjic, K. M. (2017) peningkatan konsentrasi obat pada hepar yang telah rusak dapat menyebabkan efek toksik yang signifikan, peningkatan resiko efek samping, dan hasil klinis yang negatif. Hal ini yang mungkin menjadi alasan kenapa pada perlakuan P3 organ hepar terlihat rusak, meskipun dosis perlakuan yang diberikan paling besar.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan pada penelitian ini adalah sebagai berikut

1. Pada kadar enzim SGOT dan SGPT sulit diidentifikasi apakah pemberian perlakuan P1, P2, dan P3 berdampak secara signifikan. Hal ini dikarenakan meskipun kadar enzim SGOT dan SGPT ketiga perlakuan tersebut bernilai normal untuk mencit, perlakuan kontrol negatif menunjukkan mencit tidak mengalami diabetes.
2. Pada pengamatan histopatologi pankreas kelompok P3 merupakan kelompok yang memiliki gambaran yang paling baik dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain (P1, P2, dan K+). Pada kelompok ini menunjukkan gambaran histopatologi pankreas yang mendekati normal, menunjukkan pulau langerhans secara mikroskopis mulai membaik.
3. Pada pengamatan histopatologi hepar kelompok P2 merupakan kelompok yang memiliki gambaran yang paling baik dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain (P1, P3, dan K+). Pada kelompok ini menunjukkan gambaran histopatologi hepar yang hampir kembali pada gambaran hepar normal. Perlakuan 2 yaitu ekstrak fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) dosis 100 mg/kg BB menjadi yang paling efektif mengontrol terhadap kadar SGOT, SGPT, histologi pankreas dan histologi hepar pada mencit yang diinduksi dengan Streptozotocin pada penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arfeliana.C. 2010. Pengaruh Pemberian Teh Hitam Terhadap Kadar SGOT Dan SGPT Mencit BALB /C. *Karya Tulis Ilmiah*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Butler, A. E., Janson, J., Bonner-Weir, S., Ritzel, R., Rizza, R. A., & Butler, P. C. Cell Deficit and Increased-Cell Apoptosis in Humans with Type 2 Diabetes. *Diabetes* [Internet]. 2003 Jan 1; 52 (1): 102–10.
- Chalasan, N., Younossi, Z., Lavine, J. E., Diehl, A. M., Brunt, E. M., Cusi, K., ... & Sanyal, A. J. (2012). The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology*, 55(6), 2005-2023.
- Diep, U., Chudow, M., & Sunjic, K. M. (2017). Pharmacokinetic changes in liver failure and impact on drug therapy. *AACN Advanced Critical Care*, 28(2), 93-101.
- Deniz, G. Y., Geyikoğlu, F., Türkez, H., Bakır, T. Ö., Çolak, S., & Aslan, A. (2016). The biochemical and histological effects of lichens in normal and diabetic rats. *Toxicology and Industrial Health*, 32(4), 601-613.
- Fitria, N. L., Lyrawati, D., & Handaru, M. (2015). Efek Pemberian Asam Alfa Lipoat terhadap Kadar MDA dan Gambaran Histologi pada Hati Tikus Wistar Jantan dengan Diabetes Melitus Tipe 1. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 28(3), 170-176.
- Guz, Y., Nasir, I., & Teitelman, G. (2001). Regeneration of pancreatic  $\beta$  cells from intra-islet precursor cells in an experimental model of diabetes. *Endocrinology*, 142(11), 4956-4968.
- Himawan, S. (Ed.). (1973). *Kumpulan kuliah patologi*. Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Kanter, M., Akpolat, M., & Aktas, C. (2009). Protective effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds on  $\beta$ -cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats: a light and electron microscopic study. *Journal of molecular histology*, 40(5), 379-385.
- Krysanti, A., & Widjanarko, S. B. (2014). Toksisitas Subakut Tepung Glukomanan (*A. muelleri* Blume) Terhadap Sgot dan Natrium Tikus Wistar Secara In Vivo [In Press Januari 2014]. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(1), 1-6.
- Kurt, E. Jhonson. 1994, *Histologi dan Biologi Sel*, Jakarta. Binarupa Aksara
- Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster J. Robbins & Cotran. 2010. Pathologic basis of disease. Edisi ke-8. Philadelphia: Saunders.
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2), 216-226.

- Manna, P., Das, J., Ghosh, J., & Sil, P. C. (2010). Contribution of type 1 diabetes to rat liver dysfunction and cellular damage via activation of NOS, PARP, I $\kappa$ B $\alpha$ /NF- $\kappa$ B, MAPKs, and mitochondria-dependent pathways: Prophylactic role of arjunolic acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 48(11), 1465-1484.
- Muthmainah, M., Nurwati, I., Handayani, S., Saptiwi, B., & Marufah, S. 2021. Isolat Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla* King) Memperbaiki Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Model DM Tipe 2. *Smart Medical Journal*, 4(2), 73-82.
- Qodriyati, N. L. Y. Erna. S dan Budi Y. 2016. Kadar Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT) pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan yang Dipapar Stresor Rasa Sakit *Electrical Foot Shock* selama 28 Hari. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 4: 1.
- Ressang. 1984. *Patologi Khusus Veteriner*. IPB Press, Bogor.
- Rolo, A. P., & Palmeira, C. M. (2006). Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicology and applied pharmacology*, 212(2), 167-178.
- Smith, J. B., & Mangkoewidjojo, S. (1988). *Pemeliharaan, pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis*. Penerbit Universitas Indonesia.
- Saputra, N. T., Suartha, I. N., & Dharmayudha, A. A. G. O. (2018). Agen diabetagonik streptozotocin untuk membuat tikus putih jantan diabetes mellitus. *Buletin Veteriner Udayana*, 116-121.
- Sari, L. P. (2015). *Histopatologis Pankreas, Jantung, Ginjal Dan Hati Tikus (Rattus Norvegicus) Yang Diinduksi Streptozotocin (Stz)* (Doctoral dissertation, Universitas Gadjah Mada).
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*, 50(6), 537-546.
- Tang, X., Gao, J., Wang, Y., Fan, Y. M., Xu, L. Z., Zhao, X. N., ... & Qian, Z. M. (2006). Effective protection of Terminalia catappa L. leaves from damage induced by carbon tetrachloride in liver mitochondria. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 17(3), 177-182.
- Tessari, P., Coracina, A., Cosma, A., & Tiengo, A. (2009). Hepatic lipid metabolism and non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 19(4), 291-302.
- Tristingrum, W. Y., Harini, M., & Widiyani, T. (2006). Effect of garlic extract (*Allium sativum*) on hepatic microanatomy structure and serum glutamate-pyruvate transaminase levels in rats after oral treatment of CCl<sub>4</sub>. *Asian Journal of Natural Product Biochemistry*, 4(2), 72-78.
- Wibowo, W. A. (2007). *Pengaruh pemberian perasan buah mengkudu (Morinda citrifolia) terhadap kadar sgot dan sgpt tikus putih (Rattus norvegicus) diet tinggi lemak* (Doctoral dissertation, UNIVERSITAS AIRLANGGA).
- Wilson GL. 1988. Mechanism of nitroroure induced beta cell damage. activation of poly (adp-ribose) syntase and cellular distribution. *Diabetes*. 37: 213-216.

- Wresdiyati, T., Astawan, M., & Hastanti, L. Y. (2006). Profil Imunohistokimia Superoksida Dismutase (SOD) Pada Jaringan Hati Tikus dengan Kondisi Hiperkolesterolemia. *HAYATI Journal of Biosciences*, 13(3), 85-89.
- Yaturu, S. (2011). Obesity and type 2 diabetes. *Journal of diabetes mellitus*, 1(4), 79-95.
- Yulinta, N. M. R., Gelgel, K. T. P., & Kardena, I. M. (2013). Efek toksisitas ekstrak daun sirih merah terhadap gambaran mikroskopis ginjal tikus putih diabetik yang diinduksi aloksan. *Buletin Veteriner Udayana*, 5(2), 114-121.